UNIVERSITÉ DE STRASBOURG - FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE SCOLAIRE 1937-38 N° 197

Contribution à l'Etude Botanique Chimique, et Pharmacodynamique du Bergenia Cordifolia (Haw) A. Br.

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 11 Juillet 1938
à la FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(MENTION PHARMACIE)

par

Mademoiselle SIMONE BAZET
Pharmacien

EXAMINATEURS DE LA THÈSE :
MM. R. SARTORY, Professeur, Président
A. SARTORY, Professeur } Juges
Y. VOLMAR, Professeur }

IMPRIMERIE
TOULOISE
TOUL
1938

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG - FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE SCOLAIRE 1937-38 N° 197

Contribution à l'Etude Botanique Chimique, et Pharmacodynamique du Bergenia Cordifolia (Haw) A. Br.

THÈSE

11 JUIL.

présentée et soutenue publiquement le 1938
à la FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(MENTION PHARMACIE)

par

Mademoiselle SIMONE BAZET
Pharmacien

EXAMINATEURS DE LA THÈSE :
MM. R. SARTORY, Professeur, Président
A. SARTORY, Professeur } Juges
Y. VOLMAR, Professeur }

IMPRIMERIE
TOULOISE
TOUL
1938

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548006_0056

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. A. SARTORY, *Doyen*, C. ✻, I. ✿, C. ❁
VOLMAR, *Assesseur*
CUVIER, *Secrétaire*, I. ✿

DOYEN HONORAIRE

M. JADIN, O. ✻, I. ✿, ❁

PROFESSEURS

MM.	A. SARTORY, C. ✻, I. ✿, C. ❁.	Bactériologie
	LAVIALLE, ✻, I. ✿, ❁....	Botanique
	VOLMAR, I. ✿.	Chimie organique
	GUILLAUME, ✻, ⚕, I. ✿, ❁.	Pharmacie galénique
	LAPP, I. ✿.	Chimie analytique
	CORDIER, ✿.	Pharmacie chimique
	R. SARTORY, ✿.	Matière médicale

PROFESSEUR HONORAIRE

M. JADIN, O. ✻, I. ✿, ❁

COURS COMPLÉMENTAIRES

MM.	A. SARTORY.	Hygiène
	LAVIALLE.	Hydrologie
	VOLMAR.	Chimie minérale
	GUILLAUME.	Zoologie
	LAPP.	Physique
	EISENMANN.	Législation et Déontologie
	CORDIER.	Chimie biologique
	R. SARTORY.	Cryptogamie
	DUQUENOIS.	Toxicologie

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.	R. SARTORY.	Bactériologie et Parasitologie
	COLLARD, I. ✿, ⚕.	Chimie pharmaceutique
	BOHN, A. ✿.	Histoire naturelle
	DUQUENOIS.	Chimie et Physique

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

A MON MAITRE

Monsieur le Professeur R. SARTORY

Témoignage de profonde gratitude.

AUX MEMBRES DE MON JURY :

Monsieur le Professeur A. SARTORY,
Doyen de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg,
Commandeur de la Légion d'Honneur.

Monsieur le Professeur VOLMAR

Hommage de respect et de reconnaissance.

A MA MÈRE ET A MON PÈRE

Gage de reconnaissance et de profonde affection.

A MON PARRAIN ET A MA MARRAINE,

A MA SŒUR,

A MON FRÈRE,

A TOUS CEUX QUE J'AIME.

Avant-Propos

La feuille de *Bergenia cordifolia* (Haw) A. Br., encore très souvent désignée sous le nom de *Saxifraga cordifolia*, est employée dans la médecine populaire, notamment en Alsace. On s'en sert non seulement pour panser les petites blessures, égratignures, coupures, etc., mais surtout pour traiter l'eczéma des mains qui atteint souvent les laveuses et parfois aussi les chirurgiens, par suite de contacts trop fréquents et trop prolongés avec l'eau et le savon. M. J. Meyer, Assistant de bactériologie à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, nous a signalé qu'il avait pu constater par lui-même les bienfaits de cette rustique médication.

Une personne de sa connaissance s'était, en désespoir de cause, résignée à employer la feuille de *Bergenia cordifolia* et avait obtenu un résultat satisfaisant dès les premiers jours.

M. Meyer fut naturellement intrigué et suggéra à M. le Professeur René Sartory de faire rechercher si ce végétal ne contiendrait pas un principe actif justifiant l'emploi qui en est fait. Entre temps nous avions pensé à faire une thèse et M. René Sartory nous avait accueillie dans son laboratoire avec la plus grande bienveillance. Comme nous étions très indécise sur le sujet de notre travail, notre maître nous proposa d'effectuer quelques recherches sur la feuille de *Bergenia cordifolia*. Nous avons accepté avec joie et à côté de l'étude de la feuille, nous avons effectué parallèlement celle du rhizome.

Avant d'exposer les résultats de notre travail, nous voulons remercier tous ceux qui se sont intéressés à nos modestes recherches, tout d'abord M. René Sartory, Professeur agrégé de Matière médicale à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, qui nous a toujours montré la plus grande bienveillance et qui n'a pas hésité à se déranger, pour nous aider à trouver le plus grand nombre de renseignements possible.

Nous remercions également M. le Professeur Auguste Sartory, Doyen de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, qui a bien voulu faire partie de notre Jury. Nous espérons que M. le Professeur Volmar voudra bien croire à toute notre gratitude, pour avoir accepté, lui aussi, d'appartenir à notre Jury. Ces Professeurs ont été nos maîtres pendant notre scolarité ; nous ne saurions l'oublier.

Notre reconnaissance va également à M. Bohn, Chef de Travaux de Micrographie, qui nous a donné de judicieux conseils et qui a mis à notre disposition un appareil de projection de coupes conçu par lui.

Nous remercions aussi M. Charles Lapp, Professeur de Physique à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, qui eut l'amabilité de s'intéresser à nous et qui s'informa souvent de la marche de notre travail.

Nous adressons des remerciements tout particuliers à M. André Ledoux, Assistant de Matière médicale, dont nous fûmes condisciple et qui s'est chargé avec la plus grande cordialité des mesures de chronaxie, sacrifiant ainsi plusieurs jours de ses vacances pour nous rendre service.

Nous ne voulons pas oublier parmi ceux qui nous ont aidée, M. Muller, Jardinier-Chef du Jardin Botanique de Strasbourg, qui nous a aimablement fourni le matériel de nos recherches.

Enfin, en ce jour qui marque le terme de nos études, nous voulons dire toute notre reconnaissance aux Maîtres de cette Faculté de Pharmacie de Strasbourg, où le temps et les études nous ont paru si courts !

Introduction

Le *Bergenia cordifolia* (Haw) A. Br., encore souvent appelé *Saxifraga cordifolia* (L.), appartient à la famille des Saxifragacées. Celle-ci tire son nom du fait qu'un grand nombre des plantes qu'elle renferme croissent volontiers entre les pierres ou dans les fentes de rochers (Saxum frangere). Dans l'antiquité on employait déjà les plantes de cette famille en médecine. On leur attribuait des propriétés « *lithontriptiques* ». Selon Pline, ce serait de leur pouvoir de « dissoudre la pierre » qu'elles tireraient leur nom.

Quoi qu'il en soit, on n'emploie plus, à l'heure actuelle, les Saxifragacées en médecine, si ce n'est dans la médecine populaire.

Comme nous l'avons signalé plus haut, le *Bergenia cordifolia* (Haw) A. Br. et le *B. crassifolia* (L.) sont employés dans certaines régions contre les irritations ou les légères blessures de la peau. M. J. Meyer nous a rapporté à ce propos un détail assez piquant au sujet des laveuses de Strasbourg, qui emploient fréquemment cette drogue.

Beaucoup d'entre elles sont, paraît-il, veuves et cultivent cette plante sur la tombe de leur mari ! Nous n'avons trouvé qu'un seul ouvrage relatant l'emploi de ces *Bergenia* en dermatologie. Le Docteur Antonin Bossu, dans un volume déjà ancien (1), signale que l'on rencontre parfois dans les jardins le « *SAXIFRAGE A FEUILLES CHARNUES* » (*Saxifraga crassifolia* (L.) et qu'on emploie « les feuilles de cette espèce pour le pansement des vésicatoires et des cautères. Elles sont préférables, ajoute-t-il, l'été surtout, aux feuilles de poirée ou de bette ».

Ces *SAXIFRAGES* si peu employés en médecine le sont davantage tout au moins certains d'entre eux dans l'alimentation. Dans nombre d'ouvrages consacrés à des études botaniques ou simplement à des récits de voyages en Russie, en Sibérie et jusqu'au Tibet, nous avons trouvé des renseignements concernant cet emploi.

Pickering (2) rapportait en 1875 que dans les montagnes de l'Altaï, les Mongols et les Bouriates usaient des feuilles de « *BADAN* » (*S. crassifolia* et *S. cordifolia*) com-

me succédané du thé depuis des temps très reculés. Il ajoutait que selon Pallas cette pratique remonterait à l'époque où le commerce fut interrompu entre la Chine et les tribus occupant la Sibérie. Ce serait depuis ce moment que les feuilles de *BADAN* seraient appelées « *TSCHARGIRSKOI-TCHAI* », du nom de leur lieu d'origine.

Gerth Van Wijk ([3]) dans un ouvrage plus récent (1909), confirme ce qui est dit plus haut, en donnant toutefois quelques renseignements supplémentaires sur les noms donnés au « *BADAN* » dans différents pays: en Angleterre, on l'appelle *MOUNTAIN SAXIFRAGE,* en Allemagne : *TSCHARGIRSKOI-TEE,* en France: *GAZON DE SIBÉRIE, SAXIFRAGE DE SIBÉRIE,* ou *THÉ DES MONGOLS.*

Gmelin ([4]) et Rosenthal ([5]) signalent que dans le Nord de l'Asie, les feuilles de *Saxifraga bronchialis* (L.), *S. crassifolia* et *S. cordifolia,* sont employées contre l'angine, la pleurésie et la diarrhée. Le second ajoute même que les racines sont employées « pour empêcher les fermentations putrides ».

Enfin, C. Hartwich ([6]) cite le *B. crassifolia* et ajoute « que son écorce, qui contient un glycoside susceptible de décomposer l'acide prussique, est employée en Chine ».

D'après A. Guillaumin ([7]), ces plantes des régions froides auraient été introduites en Europe vers 1765.

Ajoutons qu'en Russie et au Tibet on emploie les souches de *Bergenia crassifolia* et de *B. cordifolia* pour le tannage des peaux à cause de leur forte teneur en tanin.

Nous ferons observer, pour terminer, que comme l'on pouvait s'y attendre, le *B. cordifolia* (Haw) A. Br. et le *B. crassifolia* (L.) Engl. ne sont inscrits à aucune pharmacopée.

Après avoir donné quelques renseignements sur l'origine et les usages du *Bergenia cordifolia* (Haw) A. Br., nous allons aborder l'exposé de notre travail.

Signalons qu'il comporte trois grandes parties :

Dans la première nous examinerons rapidement les caractères botaniques généraux des Saxifragacées et du *Saxifraga cordifolia* ; dans la deuxième nous exposerons les recherches effectuées sur la feuille et dans la troisième celles dont le rhizome a fait l'objet.

PREMIÈRE PARTIE

Etude botanique générale

Avant d'aborder l'étude morphologique de la feuille de *B. cordifolia* (Haw) A. Br., nous avons jugé bon d'exposer brièvement les caractères généraux de la famille des Saxifragacées, sa place dans la classification générale et les affinités botaniques qui la lient aux familles voisines.

Nous étudierons ensuite le genre *Bergenia* avant de passer à l'étude de la drogue elle-même.

A. — LES SAXIFRAGACÉES

1° Caractères morphologiques et anatomiques.

La famille des Saxifragacées comporte environ 650 espèces ; ce sont des plantes dicotylédones, dialypétales, qui croissent dans les deux hémisphères, mais surtout dans les parties froides ou tempérées de l'Hémisphère Nord.

On en connaît en Russie, en Sibérie, dans les Montagnes de l'Altaï (*Bergenia cordifolia, B. crassifolia, B. ciliata,* etc.), au Spitzberg (*Saxifraga oppositifolia*) et même sur les pentes de l'Himalaya (*Saxifraga aristulata*), jusqu'à une altitude de 6.000 mètres, c'est-à-dire à la limite de toute végétation. On trouve aussi des plantes de cette famille dans les régions à climat tempéré (*Hydrangea, Ribes*).

Certaines Saxifragacées sont représentées dans les deux hémisphères, telles les Escalloniées qui sont cependant plus abondantes dans les régions chaudes de l'hémisphère austral.

En Australie, on trouve les *Bauera* (Cunoniées), qui grimpent à l'aide des poils qui croissent sur leur tige et qui rappellent beaucoup extérieurement les *Galium* de nos pays.

Les Saxifragacées peuvent être des plantes herbacées (*Saxifraga, Chrysosplenium, Hoteia*), des arbrisseaux iner-

mes ou aiguillonnés, ou même des plantes arborescentes (*Escallonia, Hydrangea, Cunonia* et *Ribes*).

Les feuilles sont alternes, opposées ou verticillées, simples ou plus ou moins composées, avec ou sans stipules.

L'inflorescence est essentiellement variable ; le seul caractère constant est le suivant : la fleur n'est jamais isolée (*). On trouve particulièrement des inflorescences en grappes (*Ribes*) ou dérivant de la cyme (*Hydrangea, Saxifraga, Philadelphus*).

Les fleurs sont hermaphrodites, à réceptacle plan ou concave, penta- ou parfois tétramères (*Hydrangea*). Les sépales alternent avec les pétales, la préfloraison est imbriquée. La corolle est généralement régulière, rarement zygomorphe (*S. sarmentosa*), quelquefois absente (*Chrysosplenium*). L'androcée est obdiplostémone ou isostémone par transformation des étamines épipétales en staminodes (*Parnassia*) ou par avortement complet (*Ribes*) ; il peut être mais très rarement, méristémone, par ramification des étamines épisépales (*Philadelphus*). Le gynécée comprend généralement deux carpelles, parfois trois ou même cinq, formant un ovaire libre ou plus ou moins infère, pluriloculaire (*Saxifraga philadelphus*), ou uniloculaire (*Parnassia, Ribes*). Il est à remarquer qu'il existe des Saxifragacées à carpelles indépendants, ce qui rend impossible l'établissement d'une limite exacte entre cette famille, d'une part, et les Rosacées et Crassulacées d'autre part. Les ovules nombreux sont anatropes. Le fruit est très variable; ce peut être un follicule, une capsule (*Saxifraga, Parnassia*) ou une baie (*Ribes*). La graine possède généralement un albumen abondant et la germination est normale.

Il y a très peu de Saxifragacées annuelles ou bisannuelles (*Saxifraga tridactylites*). Presque toutes sont vivaces.

Comme l'a montré Thouvenin (8), les seuls caractères anatomiques généraux des Saxifragacées sont des caractères négatifs ; il n'y a pas de canaux secréteurs, pas de liber interne et généralement pas d'oxalate de chaux.

Ajoutons que l'on connaît très peu de Saxifragacées fossiles. Bonnier et Leclerc-Dusablon (9) en signalent

(*) Exception : La fleur des Baueroïdées.

quelques-unes dans les terrains quaternaires de l'Angleterre et du Danemark, en particulier des empreintes de *S. oppositifolia*, espèce qui ne croît actuellement que dans les régions froides arctiques. Les autres Saxifragacées fossiles appartiennent surtout à la sous-famille des Cunoniées et ont été assez mal déterminées. On a trouvé cependant des empreintes de fleurs de *Stephanostemon* et de feuilles de *Deutzia*.

2° Classification :

Les Saxifragacées qui constituent une des familles naturelles de la Digynie Décandrie (*) ont depuis Linné fait couler beaucoup d'encre. Le polymorphisme de la famille a inspiré des classifications assez différentes aux botanistes. Ceux-ci, cependant, sont en général d'accord pour reconnaître les grandes affinités qui existent entre les Rosacées et Crassulacées d'une part, et les Saxifragacées d'autre part. Ces dernières ne se différencient guère des Crassulacées que par leurs graines albuminées, leur consistance non charnue, et l'absence d'appendices écailleux autour des carpelles.

Les Saxifragacées se rapprochent également beaucoup des Hamamélidacées par la fleur et par la graine qui est pourvue d'un albumen.

La ressemblance entre Saxifragacées et Rosacées est particulièrement nette entre les genres *Astilbe* (Saxifr.) et *Spirea* (Rosacées).

Remarquons en passant que certaines Saxifragacées se rapprochent par leur port des Caprifoliacées, par exemple l'*Hydrangea Arborescens* ressemble beaucoup extérieurement au *Viburnum*. Par les caractères déjà exposés, il est facile de se rendre compte que la famille des Saxifragacées est une famille par enchaînement. Les caractères communs à toutes les plantes de cette famille sont très rares ; il est néanmoins impossible de séparer les différents groupes qui la constituent car on trouve entre eux tous les intermédiaires entre des formes très diverses.

(*) Digynie Décandrie : dixième classe de Linné, représentant les familles à dix étamines et deux carpelles.

Nous allons exposer en quelques lignes la façon dont les Saxifragacées ont été classées jusqu'ici.

Antoine-Laurent de Jussieu ([10]), à la fin du XVIII[e] siècle, faisait des Saxifragacées un ordre venant immédiatement après les Sempervivae dans les dicotylédones polypétales.

De Candolle ([11]), en 1832, divisait les Saxifragacées en cinq tribus :

Escalloniae,
Cunoniae,
Bauerae,
Hydrangeae, et
Saxifrageae.

M. Le Maout et M. Decaisne ([12]) plaçaient immédiatement avant la famille des Saxigragacées les Hamamélidacées et Philadelphées, aussitôt après, les Brexiacées, Francoées et Céphalotées; les Ribésiées formant une famille spéciale.

Bentham et Hooker ([13]) ont fait plusieurs ordres des Saxifragacées et les ont placées dans la série des Calyciflorae, cohors des Rosales. Il les ont divisées en six tribus :

Saxifrageae,
Hydrangeae,
Escallonieae,
Cunonieae,
Francoae, et
Ribesiae.

(Les Calyciflorae comprenaient les Hamamélidacées, les Bruniacées et les Saxifragacées).

C'est Baillon ([14]) qui a incorporé le plus grand nombre de plantes dans la famille des Saxifragacées ; il y range en effet les Pittosporées, les Datiscées, les Hamamélidées, les Platanées, etc...

Des affinités multiples de la famille des Saxifragacées, il résulte, dit cet auteur, « qu'il n'y a pas un seul caractère de ceux qui servent à différencier entre elles les familles de dicotylédones, qui soit constant dans celle-ci ». Malgré tout, il est évident que Baillon a été un peu large.

A l'heure actuelle, Bonnier et Leclerc-du-Sablon divisent les Saxifragacées en cinq sous-familles, et les placent entre les Hamamélidacées et les Cornacées, au voisinage des Rosacées d'une part, et des Ombellifères d'autre part.

Classification de Bonnier et Leclerc-du-Sablon :

Le fruit est une capsule	Plantes herbacées		1. Saxifragées
	Abrisseaux à feuilles alternes		2. Escallonniées
	Arbres ou arbrisseaux à feuilles opposées	Sans stipules	3. Hydrangées
		Avec stipules	4. Cunoniées
Le fruit est une baie			5. Ribésiées

Guignard ([15]) place les Saxifragacées entre les Crassulacées et les Hamamélidacées, et les divise en :

Saxifragées : Plantes herbacées à feuilles isolées. Deux carpelles. Le plus souvent libres ou concrescents.

Philadelphiées: Plantes ligneuses à feuilles opposées. Filets staminaux aplatis. Trois carpelles, donnant un ovaire pluriloculaire plus ou moins infère, ovules multisériés. Capsule septicide.

Escallonniées: Plantes ligneuses à feuilles isolées. Cinq étamines ; deux ou cinq carpelles. Donnant un ovaire pluriloculaire plus ou moins infère, ovules multisériés. Capsule septicide.

Ribésiées : Arbustes inermes ou aiguillonnés, à feuilles isolées ; cinq étamines ; deux ou trois carpelles formant un ovaire infère à placentation pariétale; ovules nombreux; baie; graine à tégument pulpeux.

Engler ([16]) classe les Saxifragacées de la façon suivante, d'après les caractères des fleurs :

A. Herbes à port variable, le plus souvent à feuilles alternes, sans stipules. Fleurs le plus souvent à cinq, rarement à quatre sépales et pétales, parfois apétales, ovaire uni- ou pluriloculaire, formé de deux et rarement de trois ou quatre carpelles, supère ou infère :

I. *Saxifragoïdeae.*

a) Androcée hypogyne ou périgyne, ou épigyne :

1. *Saxifrageae.*

a) Carpelles rarement libres, le plus souvent plus ou moins soudés, et dans ce cas placentation pariétale, centrale ou axile.

I. Grands arbustes à feuilles composées, trilobées ou digitées avec stipules. Petits pétales en languettes ou pas de pétales. Ovaire supère. Carpelles libres ou soudés :

1*a*. *Astilbinae*.

II. Arbustes à feuilles sessiles ovales, coriaces, sans stipules. Petits pétales en spatules. Carpelles presque toujours libres :

1*b*. *Leptarrheninae*.

III. Arbustes, rarement herbes annuelles. Feuilles entières ou déchiquetées, avec ou sans stipules. Carpelles plus ou moins soudés. Réceptacle floral plan ou concave, libre ou soudé aux carpelles :

1*c*. *Saxifraginae*.

b) Carpelles soudés, feuilles opposées :

1*d*. *Vahliinae*.

c) Carpelles soudés. Ovaire biloculaire avec un ovule dressé dans chaque compartiment :

2. *Eremosyneae*.

d) Trois ou quatre carpelles soudés. Placentation pariétale. Fruits (trois ou quatre). A déhiscence valvaire :

3. *Parnassieae*.

b) Etamines épigynes, serrées autour de la base du disque floral :

4. *Donatieae*.

B. Plantes vivaces, feuilles sessiles en touffe au bout d'une tige nue. Fleurs souvent sur le type quatre. Etamines le plus souvent huit, avec de petites écailles. Ovaire tétraloculaire rarement biloculaire, avec un nombre indéfini d'ovules, dressés sur deux rangs :

II. 5. *Francoïdeae*.

C. Arbrisseaux ou arbres à feuilles simples, le plus souvent sessiles, sans stipules. Fleurs le plus souvent sur le type cinq. Etamines le plus souvent épigynes, parfois en

nombre indéfini. Ovaire demi-infère, le plus souvent à trois ou cinq loges :

III. *Hydrangoïdeae.*

a) Fleurs toutes pareilles; préfloraison le plus souvent tordue. Etamines le plus souvent aplaties :

6. *Philadelpheae.*

b) Les fleurs de la périphérie de l'inflorescence fréquemment (pas toujours) stériles, avec de grands sépales ; pétales le plus souvent en valves pendant la préfloraison. Fruit : capsule ou baie :

7. *Hydrangeae.*

D. Arbrisseaux à feuilles simples et alternes à stipules. Dix étamines. Ovaire infère, pentaloculaire, avec quatre ou six ovules dressés. Placentation centrale :

IV. 8. *Pterostemonoïdeae.*

E. Arbrisseaux ou arbres rares, à feuilles entières, alternes, souvent coriaces, glanduleuses et dentelées, sans stipules. Etamines en même nombre que les pétales. Ovaire supère, ou infère ou intermédiaire, le plus souvent avec un grand nombre d'ovules dressés sur plusieurs rangs:

V. 9. *Escallonioïdeae.*

F. Arbustes à feuilles simples, alternes, sans stipules, fleurs en grappes; ovaire infère uniloculaire. Placentation pariétale. Le fruit est une baie :

VI. 10. *Ribesioïdeae.*

G. Arbustes à feuilles opposées, trilobées, sans stipules, fleurs isolées ; ovaire semi-infère. Placentation pariétale ; ovules en grand nombre ; fruit constitué par une capsule :

VII. 11. *Baueroïdeae.*

B. — LE GENRE BERGENIA (MOENCH)

Les *Bergenia* (Moench) sont des plantes herbacées, vivaces, très répandues dans l'Asie centrale, et septentrionale, particulièrement dans les régions montagneuses. Les feuilles sont grandes, brillantes, charnues et présentent des poils glanduleux. Le limbe peut être décurrent et ovale. (*B. crassifolia*) (L.) Engl., ou à peu près rond, à bords légèrement crispés (*B. cordifolia*) (Haw) A. Br. La base des pétioles est élargie en gaîne autour du rhizome. L'inflorescence en

cyme compacte se forme au sommet d'une hampe épaisse, cylindrique et charnue, qui peut atteindre jusqu'à 35 centimètres de hauteur en pleine floraison. Les fleurs, une dizaine par cyme, sont roses ou rougeâtres ; elle ont cinq pétales, cinq sépales, dix étamines à anthères biloculaires, introrses, s'ouvrant par deux fentes longitudinales. L'ovaire est libre, supère, formé de deux carpelles soudés seulement à la base, surmontés de deux styles presque parallèles et de stigmates hémisphériques. Le fruit sec est formé de deux follicules indépendants, s'ouvrant par deux fentes vers l'intérieur. Les graines sont nombreuses, très petites, allongées, et possèdent un albumen charnu à embryon axile.

La souche est constituée par un rhizome rampant, épais et dense.

Les *Bergenia* sont classés dans la sous-famille des Saxifragées et, suivant les botanistes, ils sont incorporés au genre *Saxifraga* ou bien ils en sont exclus, pour former un genre nettement séparé.

Cette deuxième classification est la plus employée et la plus appréciée à l'heure actuelle ; c'est d'ailleurs la plus logique.

En 1830, De Candolle [11] faisait des *Bergenia* une section du genre *Saxifraga,* et ajoutait à la suite de la caractéristique de cette section: « sectio dubia, verisimiliter ad Leptarrhenam referenda ».

Engler [17] quarante ans plus tard (1872), donne une classification des Saxifragacées et fait des *Bergenia* un genre complètement séparé des *Saxifraga.*

Voici, résumés brièvement, les caractères qu'il attribue aux *Bergenia* :

Bergenia: Mônch (Geryonia; Schrank, Megasea: Haw).

Réceptacle floral presque plan, non soudé latéralement à l'ovaire. Calice à sépales, imbriqués en quinconces. Pétales fixés sur le bord du réceptacle floral, imbriqués pendant la préfloraison. Dix étamines. Sacs polliniques courts, ovales, s'ouvrant latéralement ; carpelles deux ou trois, soudés seulement à la base ; à placentation pariétale. Graines nombreuses. Fruit constitué par une capsule. Ces plantes se présentent en touffes vivaces, à souche épaisse. Les feuilles sont consistantes, plus ou moins ovales, ponctuées de

glandes très apparentes à la loupe ; les inflorescences sont en ombelles, les fleurs très jolies, sont protérogynes, à pétales roses ou blancs.

En 1890, M. Thouvenin (8) (*) publie un travail remarquable sur la structure des Saxifragacées, d'où il ressort que les caractères anatomiques principaux, brièvement résumés, du genre *Saxifraga*, sont les suivants :

1° Stomates entourés de trois, quatre, cinq ou six cellules, non réparties uniformément à la surface du limbe, mais ayant une tendance à former des groupes séparés les uns des autres par des espaces imperforés.

Font exception les *S. crassifolia, cordifolia, ciliata,* où les stomates sont entourés par quatre, cinq ou six cellules beaucoup plus petites que les cellules voisines. Leur mode de formation est le suivant : l'initiale épidermique présente un certain nombre de cloisons inclinées les unes sur les autres, de manière que les cellules ainsi délimitées soient disposées en une spirale dont le dernier tour constitue la cellule-mère du stomate.

2° Dans les feuilles les nervures se terminent dans de petits corpuscules ovoïdes bien nettement séparés du mésophylle ambiant et formés de petites cellules dont les parois sont minces et le contenu incolore.

Font exception les *S. crassifolia, cordifolia* et *ciliata,* où les nervures, à leur extrémité, sont encore réduites à quelques vaisseaux se terminant aussi dans un massif de petites cellules au-dessus duquel l'épiderme supérieur est comme précédemment bien différencié et passe peu à peu sur les bords au parenchyme ambiant avec lequel il se confond.

3° Dans les feuilles les stomates aquifères se trouvent sur l'épiderme supérieur seulement.

4° On trouve des poils tecteurs pluricellulaires sur presque toutes les feuilles de Saxifrages.

Exceptions : *S. crassifolia, cordifolia.*

(*) Ce travail avait pour but d'établir une classification rationnelle des Saxifragacées en se basant uniquement sur leurs caractères anatomiques.

5° On note généralement l'absence de cristaux d'oxalate de chaux.

Exceptions : *S. crassifolia, cordifolia, ciliata* et *sarmentosa.*

6° Le suber, quand il s'en forme, naît aux dépens de l'assise la plus externe du péricycle.

Thouvenin (8) conclut: « On voit par plusieurs de ces caractères que les *S. cordifolia, crassifolia* et *ciliata* font exception, et que sans eux, le genre *Saxifraga* serait assez bien caractérisé anatomiquement par un ensemble de faits... — Or, il n'y a pas d'accord chez les botanistes au sujet de ces trois espèces ; pour les uns ce sont bien des Saxifrages, pour les autres il y a doute... » et plus loin, commentant la phrase de De Candolle, que nous donnons plus haut, il ajoute : « L'anatomie venant confirmer cette conclusion lève tous les doutes qui pouvaient exister au sujet de la présence de ces trois espèces dans le genre *Saxifraga* ; elles doivent en être retirées et former un genre spécial ».

Bien qu'actuellement certains botanistes persistent encore à inclure les *Bergenia* dans le genre *Saxifraga*, il semble bien que ce ne soit pas très logique.

Engler (16), dans ses ouvrages les plus récents, divise les Saxifragoïdées en dix-neuf genres :

I. 1. c. Saxifragoïdeae-Saxifrageae-Saxifraginae.

A. Réceptacle floral plan ; feuilles en cœur ; cinq à sept sépales pétaloïdes ; pas de pétales ; étamines 10-14 : *Oresitrophe.*

B. Réceptacle floral plan, légèrement concave ou très concave.

a) Feuilles à glandes nombreuses : *Bergenia.*

b) Feuilles sans glandes, glabres ou garnies de poils de formes variées :

a) Placentation centrale, réceptacle floral plus ou moins concave, soudé aux carpelles seulement à la base : *Bolandra.*

Etc...

C'est ainsi que le genre Bergenia se trouve placé entre les genres *Oresitrophe* et *Bolandra*, les dix-neuf genres établis par Engler étant les suivants :

Oresitrophe, Bergenia, Bolandra, Boykinia, Sullivantia, Suksdorfia, Aceriphyllum, Saxifraga, Peltiphyllum, Saxifragella, Zahlbrucknera, Tiarella, Fauria, Heuchera, Tolmiea, Tellima, Mitella, Chrysosplenium, Lepuropetalum.

C'est cette classification que nous avons adoptée et dans l'exposé de nos recherches, nous désignerons notre drogue par le terme de *Bergenia cordifolia.*

C. — LE BERGENIA CORDIFOLIA (HAW) A. BR.

Synonymes : **Saxifraga cordifolia (L.)**
Megasea cordifolia (Haw)

Le *Bergenia cordifolia* (Haw) A. Br. est originaire de l'est et du centre de l'Asie. On le trouve surtout dans le Massif de l'Altaï, où il recouvre de grandes étendues particulièrement dans les régions forestières de la montagne. Les feuilles sont cordées, vert foncé et brillantes, elles ont environ 20 cm. de diamètre ; leurs bords sont légèrement ondulés. Les nervures sont plus apparentes que sur les feuilles de *B. crassifolia* (L.) Engl. Sur le limbe et sur le pétiole on remarque même à l'œil nu de nombreux poils glanduleux.

Pendant la préfloraison, l'inflorescence est protégée et complètement enveloppée par les bases des pétioles superposées et très élargies. Au voisinage immédiat des fleurs, les feuilles sont alors réduites à des sortes de spathes blanchâtres, veinées de vert et de rose, portant à leur sommet une minuscule languette verte qui constitue le limbe. Les fleurs sont régulières rose pâle, à pétales obovales ; elles peuvent avoir de 15 à 20 mm. de diamètre. Les sépales et la hampe florale sont vert clair, alors que dans l'espèce *crassifolia,* ces organes sont rougeâtres.

Les *Bergenia cordifolia* et *crassifolia* sont très décoratifs tant par leur feuillage que par leurs fleurs ; c'est pourquoi on les trouve fréquemment dans les jardins où ils forment de magnifiques bordures.

Le rhizome affecte la forme d'un épais cordon, plus ou moins tordu, irrégulièrement ramifié, il est entouré d'une gaîne formée de larges écailles noires, qui ne sont autres que les bases élargies des pétioles ayant persisté après la disparition des feuilles.

Dans leur pays d'origine, les *Bergenia cordifolia* et *crassifolia* fleurissent en plein hiver ; dans nos pays, la floraison est beaucoup plus tardive. Nous avons pu constater qu'au 1er mars 1938, aucun d'entre eux n'était encore fleuri au Jardin Botanique de Strasbourg. Cependant ayant cueili plusieurs touffes de ces plantes en automne (1937), nous avons constaté la présence au milieu des feuilles d'inflorescences déjà très avancées puisque les pétales étaient roses et les anthères parfaitement formés ; après une cueillette en décembre (1937), nous avons trouvé des inflorescences noircies et même pourries. Notre climat, trop tempéré est peut-être responsable de ce phénomène.

Nous ferons observer, avant de poursuivre, que plusieurs auteurs considèrent le *Bergenia cordifolia* comme une simple variété du *Bergenia crassifolia.*

Ledebour ([18]) (Flora altaica) cite le *S. crassifolia* (L.) et le divise en deux variétés :

a) *cordata* (*cordifolia*),

b) *elliptica* (*crassifolia*).

Plus tard, le même auteur fait une espèce distincte de *B. cordifolia.*

Rosenthal ([19]) et Gmelin ([20]) considèrent également le *B. cordifolia* comme une espèce véritable ; le second fait cependant remarquer que les différences sont minimes.

M. Guillaumin ([21]) considère que *B. cordifolia* n'est qu'une variété de *B. crassifolia.*

Engler ([22]) en fait résolument deux espèces bien différentes et indique même l'existence d'un hybride: *Bergenia media* (Haw) (*Bergenia cordifolia* × *Bergenia crassifolia*).

Cet hybride serait d'ailleurs assez peu répandu dans les jardins.

Il semble, étant donnés les lieux d'origine différents de ces deux plantes, qu'elles constituent, ou deux espèces distinctes, ou deux variétés naturelles, mais en tout cas, ce ne peuvent être, à notre avis, deux simples variétés horticoles.

DEUXIÈME PARTIE

La Feuille de Bergenia Cordifolia (Haw) A. Br.

ETUDE BOTANIQUE

La feuille de *Bergenia cordifolia* se distingue de celle de *B. crassifolia* par son limbe arrondi, nettement différencié du pétiole, et ses nervures très saillantes.

Structure : La coupe effectuée dans la feuille montre une structure assez classique ; il n'y a d'intéressants que les poils glanduleux que l'on trouve sur les deux faces du limbe, mais surtout sur la face inférieure. Ces poils existent aussi sur le pourtour du pétiole, mais en moins grand nombre. Ils sont logés dans de petites invaginations de l'épiderme. Thouvenin (*) les a cités sans les décrire. Ils appartiennent au troisième genre décrit par Martinet (23). (Voir tableau, page 27). Ils sont, en effet, glanduleux à leur sommet, la glande est pluricellulaire, formée par des cloisonnements de cellules non exclusivement verticaux. Le pédicelle est court ; il ne comprend jamais que peu de cellules dans le sens vertical, mais peut en comporter jusqu'à cinq dans le sens horizontal. (Voir figure 2 (3). Si l'on examine un lambeau d'épiderme de face au microscope, la tête des poils, qui est énorme, cache complètement le pédicelle ; après l'action prolongée (12 à 24 heures) de ClONa on distingue, par transparence, les cellules des pédicelles grâce à leurs membranes plus épaisses, qui apparaissent en foncé. Ces poils sont fragiles et se séparent des feuilles au moindre choc. Pour les voir de profil, il faut avoir une coupe transversale assez épaisse. Quand un poil est lésé, il s'aplatit et s'incurve, car la cuticule qui était soulevée par la substance secrétée retombe sur les cellules du poil, qui forment une sorte de coupe.

D'après les examens nombreux que nous avons faits

de ces organes, nous avons pu constater qu'ils se rapprochent beaucoup des glandes du *HOUBLON*.

Nous avons conservé pendant plusieurs semaines un pied de *Bergenia cordifolia* dans de l'eau, des feuilles s'y sont développées ; celles-ci très petites et fragiles, portaient un nombre extraordinaire de poils secréteurs dont la ressemblance avec les glandes du *HOUBLON* était encore plus manifeste que dans les conditions ordinaires. Il nous a suffi de râcler très légèrement l'épiderme de ces feuilles avec un scalpel, pour recueillir un grand nombre de poils que nous avons pu examiner au microscope avec une grande facilité. (Voir figure 2) (²).

Remarquons en passant que les feuiles des Ribésiées présentent des poils qui semblent analogues à ceux que nous venons de décrire.

RECHERCHES MICROCHIMIQUES

Essences : L'orcanette acétique ne nous a donné une coloration rose que dans les poils glanduleux déchirés.

Mucilages : L'hématoxiline nous a donné un résultat négatif ; donc pas de cellules à mucilage.

Tanin : Le Fe2Cl6 colore toute la coupe en noir.

Le réactif de Braemer (*) donne un précipité dans les cellules :

de l'épiderme dans celles du mésophylle et au voisinage des faisceaux libéro-ligneux.

Alcaloïdes : La recherche de ces substances par la méthode d'Errera n'a donné aucun résultat.

Amidon : L'eau iodée n'a rien donné.

(*) Le réactif de Braemer : Acéto-tungstate de soude en solution aqueuse.

BERGENIA CORDIFOLIA (Haw) A. Br.

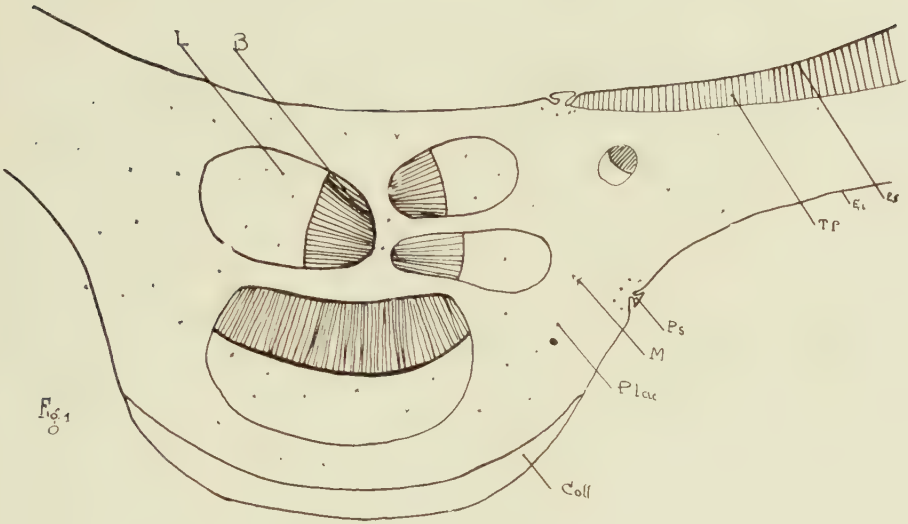


Fig 1

Schéma de la structure de la feuille
(coupe transversale)

Es : Epiderme supérieur. Ei : Epiderme inférieur. TP : Tissu palissadique Ps : Poil sécréteur. M : Mâcle d'oxalate de chaux. Plac : Parenchyme lacuneux. Coll . Collenchyme. L : Liber. B : Bois.

BERGENIA CORDIFOLIA (Haw) A. Br.

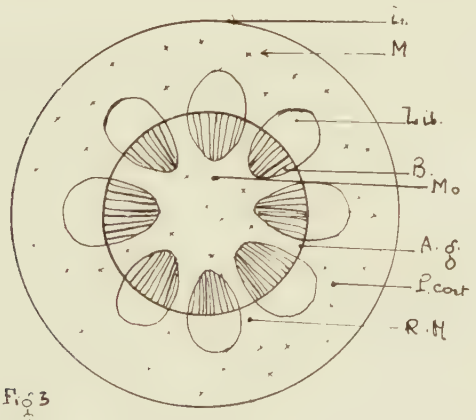


Fig 3

Schéma de la structure du rhizome
(coupe transversale)

L : Liège. M : Mâcle d'oxalate de chaux. Lib : Liber. B : Bois. Mo : Moëlle Ag : Assise génératrice. Pc : Parenchyme cortical. RM : Rayon médullaire.

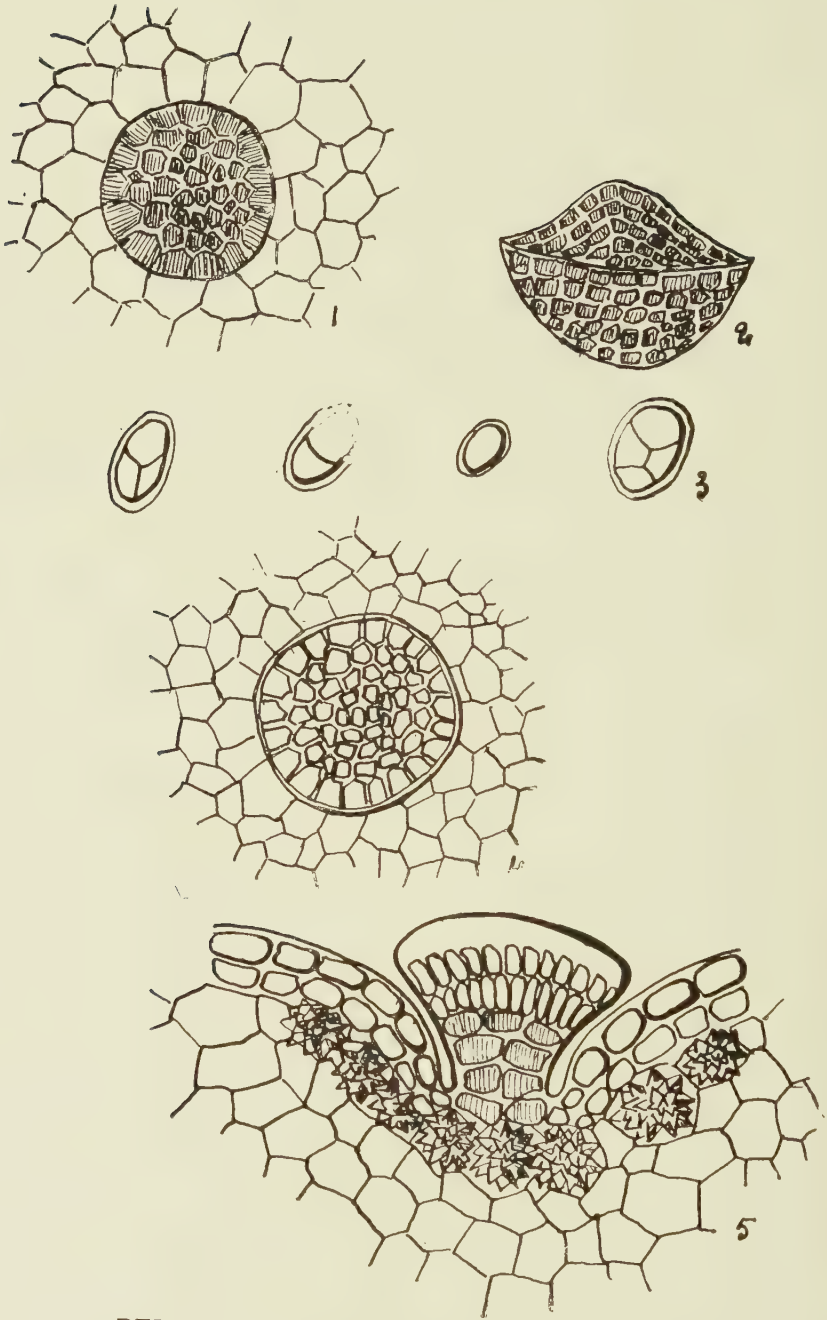


Fig. 2

BERGENIA CORDIFOLIA (Haw) A. Br.

Poils sécreteurs

1 : Poil sécréteur vu de face sur un lambeau d'épiderme.
2 : Poil sécréteur détaché de son pédicelle.
3 : Pédicelle de poil sécréteur vu de face sur un lambeau d'épiderme après séparation de la tête du poil.
4 : Poil sécréteur vu de face sur un lambeau d'épiderme après action prolongée de ClONa.
5 . Poil sécréteur vu de profil sur une coupe transversale de feuille. (Remarquer les grosses mâcles d'oxalate de chaux qui l'entourent).

TABLEAU DE LA DIVISION DES POILS GLANDULEUX

POILS GLANDULEUX

A leur sommet — I. 1er Groupe

Glande unicellulaire ..... A. 1er genre ..... Pédicelle : Court a. 1ère espèce ; moyen b. 2ème espèce ; long c. 3ème espèce

Glande pluricellulaire. Cellules produites par des cloisonnements :

- Exclusivement verticaux ; — Glande formée de :
  - B. 2ème genre — 2 cellul. / 1er sous-genre — Pédicelle : Court a. 1ère espèce ; moyen b. 2ème espèce ; long c. 3ème espèce
  - 4 cellul. / 2° sous-genre — Pédicelle : Court a. 1ère espèce ; moyen b. 2ème espèce ; long c. 3ème espèce
  - 8 cellul. / 3° sous-genre — Pédicelle : Court a. 1ère espèce ; moyen b. 2ème espèce ; long c, 3ème espèce
  - 16,32 ou un grand nombre de cellul. (4° sous-genre) — Pédicelle : Court a. 1ère espèce ; moyen b, 2ème espèce ; long c. 3ème espèce
- Non-exclusivement verticaux : — C. 3ème genre ..... Pédicelle :
  - Court . . . . a. 1ère espèce
  - Long. formé par : 1 rangée de cellules b. 2ème espèce
  - plus. rangées c 3ème espèce

A leur base — II. 2° Groupe

Poil non urticant ..... a. 1° espèce

Poil urticant .....
- Placé debout, c.-à.-d. perpendiculairement à l'épiderme b. 2° espèce
- Couché parallèlement à l'épiderme ..... c. 3° espèce

(*) D'après MARTINET : Mémoire sur les organes de secrétions des végétaux, Paris (1872), p. 47.

ETUDE CHIMIQUE

CHAPITRE PREMIER

Essais préliminaires

Nous avons toujours opéré sur la feuille entière essuyée puis rapidement séchée, et pulvérisée au moulin ; dans certains cas où l'emploi d'une poudre plus fine était nécessaire, nous avons pulvérisé et tamisé sans résidu au tamis N° 9 (Codex). Aussi souvent que possible, nous avons employé la feuille fraîche.

Avant d'entreprendre l'étude chimique un peu plus approfondie, nous avons effectué quelques essais préliminaires, qui peuvent donner des indications sur l'existence de certains constituants.

Nous avons divisé ces essais préliminaires en trois groupes :

A. — Essais chimiques qualitatifs ;

B. — Essais quantitatifs ;

C. — Essais biologiques (recherche de différentes diastases).

A. — ESSAIS QUALITATIFS

Nous avons fait macérer pendant 24 heures à l'étuve à 37° quelques grammes de feuilles desséchées et pulvérisées dans 50 cc. d'eau distillée ; après filtration, nous avons obtenu un liquide brun rougeâtre, d'odeur faiblement aromatique, de saveur amère et très astringente. Cette solution présentait les caractères suivants :

1° Faiblement acide au tournesol ;
2° Mousse légèrement par agitation ;
3° Ne précipite pas à l'ébullition ;
4° Donne un louche par ébullition en milieu acétique ;

5° Pas de précipité avec l'acide picrique ;
6° Pas de précipité avec le réactif de Bertrand à l'acide silico-tungstique ;
7° Coloration noire et précipité noir avec le Fe2 Cl16;
8° Forte réduction, commençant à froid, de la Liqueur de Fehling ;
9° Précipité vert sale et coloration brun rouge en surface avec la soude ;
10° Avec l'ammoniaque, même réaction qu'avec la soude ;
11° Précipité abondant, jaunâtre, avec la Liqueur de Courtonne (acétate neutre de Pb) ;
12° Précipité abondant par addition d'extrait de Saturne (acétate basique de Pb) au filtrat précédent;
13° Louche léger avec le réactif de Bouchardat.

En résumé, ces diverses réactions nous ont indiqué la présence d'acides ou sels d'acides de substances protéiques de matières réductrices et de tanin.

B. — ESSAIS QUANTITATIFS

1° *Dosage du résidu extractif de la solution aqueuse* :

Nous avons fait macérer 5 gr. de feuilles desséchées et pulvérisées à l'étuve à 37° pendant 12 heures, dans 50 cc. d'eau distillée. Après filtration, nous avons prélevé un volume de macéré tel qu'il corresponde à 1 gr. de plante. Le liquide a été évaporé, d'abord au bain-marie, puis à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant. Nous avons ainsi obtenu 0,105 gr. d'extrait sec, brun-verdâtre assez foncé, soit 10 gr. 50 %.

2° *Dosage du résidu alcoolique après épuisement aqueux* :

2 gr. de drogue, précédemment épuisée à l'eau, ont été traités par 20 cc. d'alcool, à l'étuve à 37°, pendant 24 heures. Après filtration nous avons prélevé la moitié du filtrat, qui correspondait à 1 gramme de feuille, nous l'avons évaporée au bain-marie, puis desséchée à l'étuve à 80° jusqu'à poids constant. Nous avons obtenu 0,144 gr. d'un extrait vert-foncé, soit 14 gr. 40 %.

3° *Teneur en eau* :

Nous avons introduit une feuille fraîche venant d'être cueillie de *B. cordifolia* dans un pèse-litre, où nous l'avons pesée très exactement, puis nous l'avons laissée à l'étuve à 100° 12 heures environ ; ensuite nous avons pulvérisé très finement la feuille partiellement desséchée, la poudre obtenue a été introduite dans le pèse-filtre et replacée à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant (5 heures environ). Après refroidissement dans un dessicateur où le vide partiel avait été réalisé, la perte en eau était de 77,70 %.

Il est à noter qu'au cours de la dessication, une partie des substances volatiles a pu disparaître et que, par suite, ce chiffre n'est qu'approximatif.

C. — RECHERCHE DES DIFFÉRENTS FERMENTS

1° *Oxydase et peroxydase* :

A quelques cc. de macéré aqueux de feuilles fraîches, nous avons ajouté quelques gouttes d'une solution aqueuse de gaïacol à 5 %, nous n'avons pas obtenu la coloration rouge caractéristique de la tétragaïacoquinone, nous avons donc conclu à l'absence d'oxydase.

L'addition de quelques gouttes d'eau oxygénée n'a pas fait apparaître de coloration bleue : donc absence de peroxydase.

2° *Emulsine* :

Une fiole conique contenant : 25 cc. d'eau, quelques grammes de feuille fraîche contusée, 0 gr. 20 environ d'amygdaline, a été placée à l'étuve à 37° pendant 6 heures. Nous avons fixé au bouchon du flacon une bande de papier picro-sodé de Guignard. En effet, quand le produit en essai contient de l'émulsine, celle-ci décompose l'amygdaline ; il se forme du glucose, de l'acide benzoïque et de l'acide cyanhydrique, qui réagit sur l'acide picrique du papier picro-sodé en donnant de l'acide isopurpurique rouge. Après un séjour de 6 heures à l'étuve à 37°, le papier réactif était grenat ; nous avons donc conclu à la présence de l'émulsine ou d'une diastase analogue.

3° *Invertine* :

Pour cette recherche, nous avons employé une poudre fermentaire préparée selon la méthode de Bourquelot (24).

30 grammes de feuilles fraîches très finement divisées ont été lixiviées avec de l'alcool à 95°, jusqu'à ce que celui-ci passe incolore ; de cette façon, l'alcool a provoqué une coagulation du ferment sur le végétal, coagulation réversible, puisqu'opérée rapidement et à froid. D'autre part, une forte proportion de matières inutiles ou gênantes (acides gras, tanin, etc.) a été éliminée par ce traitement. Entre temps, nous avions préparé une solution de saccharose pur à 2 %, et après avoir vérifié qu'elle ne réduisait pas la Liqueur de Fehling, nous l'avions examinée au polarimètre. Nous avions trouvé 2°40 au tube de 2 décimètres, soit un pouvoir rotatoire spécifique de 66°,6.

Nous avons alors additionné la solution de saccharose de 1 gr. de poudre fermentaire, convenablement desséchée, d'une pincée de carbonate de chaux, pour saturer les acides organiques que le traitement à l'alcool aurait pu épargner, et le tout additionné de toluène (*) a été placé à l'étuve à 37°.

Après 24 heures, la solution réduisait fortement la Liqueur de Fehling, et donnait une déviation polarimétrique de — 50', soit un pouvoir rotatoire spécifique de — 20°50'. Nous avons donc pu conclure à la présence d'une diastase hydrolysant le saccharose et par conséquent analogue à l'invertine.

(*) Le toluène est inactif à la lumière polarisée.

CHAPITRE II

Recherche des Alcaloïdes

Jusqu'ici, à notre connaissance, on n'a jamais signalé la présence d'alcaloïdes dans la famille des Saxifragacées.

Nous avons néanmoins effectué la recherche de ces principes dans la feuille de *Bergenia cordifolia*, tout d'abord, par la méthode classique de Stas-Otto, et ensuite par la méthode à l'acide silico-tungstique.

I. — RECHERCHE DES ALCALOIDES PAR LA MÉTHODE DE STAS-OTTO

Cette méthode est basée sur les propriétés des alcaloïdes :

1° Les alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool en milieu acide par formation de sels.

2° Les alcaloïdes se trouvent chez la plante sous forme de combinaisons salines faibles (*), qui peuvent être déplacées par des bases fortes.

3° Sous forme de bases les alcaloïdes son solubles dans les solvants organiques.

Nous avons opéré de la façon suivante :

100 grammes de feuilles sèches pulvérisées ont été mis à macérer pendant 48 heures à l'étuve à 37° dans 400 cc. d'alcool à 95°, contenant 2 % d'acide tartrique. Après filtration, l'alcool évaporé sous pression réduite a abandonné un résidu de consistance sirupeuse, qui à son tour a été traité par 50 cc. d'alcool tartrique, puis filtré et concentré.

L'extrait obtenu, qui se présente en masse vert-foncé et sale, a été épuisé à plusieurs reprises par de l'eau tiède,

(*) Dans la plante « morte » ; car dans la cellule vivante, les alcaloïdes sont toujours en solution dans le suc cellulaire. Après la mort du végétal, ils s'unissent aux acides pour former des sels.

sans dépasser 60° (*). Les liqueurs aqueuses filtrées ont été réunies dans une ampoule à décantation, épuisées trois fois par 20 cc. d'éther, puis ensuite de la même façon par le chloroforme.

Les liquides éthérés ont été réunis dans un cristallisoir, et les liquides chloroformiques dans un autre.

La solution contenue dans l'ampoule a été alcalinisée en présence de tournesol, par du carbonate de soude, et épuisée par l'éther et le chloroforme comme précédemment.

Nous avions alors quatre solutions : deux éthérées, et deux chloroformiques. Toutes les quatre ont été évaporées, d'abord au B. M. puis à l'air libre, pour essayer d'obtenir des cristallisations.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

a) *Ether acide* : résidu vert-foncé, assez abondant, presque entièrement soluble dans l'eau, présentant une odeur très nette, rappelant celle obtenue dans la recherche de l'essence. Ce résidu ne nous a pas donné de précipité avec les réactifs généraux des alcaloïdes.

Il ne contenait pas d'azote (réaction du bleu de Prusse).

Il réduisait fortement la Liqueur de Fehling.

Il contenait de nombreux cristaux en fines aiguilles enchevêtrées. Certains de ces cristaux se sont révélés très solubles dans l'éther ; nous avons pu les identifier comme étant de l'hydroquinone ; les autres, insolubles dans l'éther, mais solubles dans l'eau, étaient constitués probablement par de l'arbutine.

b) *Chloroforme acide* : résidu beaucoup moins abondant que le précédent, présentant les mêmes caractères et les mêmes propriétés.

c) *Ether alcalin* : faible résidu d'un vert peu net, légèrement brunâtre.

(*) A partir de 70°, certains alcaloïdes (cocaïne, émétine, etc.) sont altérés.

d) *Chloroforme alcalin* : ne contient pas d'azote ; ne précipite pas les réactifs généraux des alcaloïdes.

II. — RECHERCHE DES ALCALOIDES PAR LA MÉTHODE A L'ACIDE SILICO-TUNGSTIQUE

Cette méthode, appliquée par G. Bertrand au dosage des alcaloïdes permet d'en déceler de très faibles quantités.

Elle consiste à inclure la molécule alcaloïdique dans un précipité.

On emploie l'acide silico-tungstique tétrabasique, qui se combine aux alcaloïdes dans la proportion d'une molécule d'acide pour quatre d'alcaloïde. Les complexes obtenus répondent à la formule générale :

Si 02 12 Tu 0 3 10 H20 + 4 alcal (*).

Nous avons introduit dans un ballon 50 grammes de drogue pulvérisée, 250 cc. d'eau et 10 cc. d'acide nitrique à 10 %, le tout a été placé à l'étuve à 37° et agité de temps en temps.

Après 48 heures, nous avons filtré et obtenu un liquide brun verdâtre, qui a été placé dans une ampoule à décantation et agité avec 5 cc. d' NH4 0H, concentré et 100 cc. d'éther. Nous avons recommencé deux fois successivement avec chaque fois 50 cc. d'éther.

Les solutions éthérées réunies ont été traitées par 10 cc. d'eau et 10 cc. N03H au dixième.

La solution aqueuse acide dans laquelle auraient dû passer les alcaloïdes a été soutirée, débarrassée de l'éther dissous par chauffage au B. M. et additionnée de 15 cc. d'une solution aqueuse à 5 % d'acide silico-tungstique et de 20 cc. N03H à 10 %.

Nous avons chauffé la solution jusqu'à commencement d'ébullition, pui nous l'avons abandonnée 24 heures au repos.

(*) Font exception l'acotinine et l'ergotine, dont trois molécules 1/2 sont saturées par une molécule d'acide silico-tungstique.

Dans ces conditions, nous aurions dû obtenir un précipité de silico-tungstate d'alcaloïde ; or, nous n'avons même pas obtenu un trouble.

La méthode de Stas-Otto et la méthode à l'acide silico-tungstique nous ayant toutes deux donné des résultats négatifs, nous avons conclu à l'absence de tout alcaloïde dans la feuille de *Bergenia cordifolia.*

CHAPITRE III

Étude des glucides

I. — L'HETEROSIDE

Historique

Mlle Braeke ([26]), en 1930, a publié un mémoire sur le noircissement des feuilles de *B. cordifolia* (Haw) A. Br. au cours de la dessication et a été amenée à conclure que ce noircissement était imputable à un hétéroside ou plutôt aux produits de dédoublement de celui-ci, contenu en forte proportion dans les feuilles étudiées.

Après la mort de Mlle Braeke, des essais ont été repris à Bruxelles au Laboratoire de M. le Professeur Wattiez et ont démontré que l'hétéroside du *B. cordifolia* est l'*arbutoside*, anciennement et encore appelé *arbutine*.

Les résultats obtenus par M. le Professeur Wattiez n'ont pas été publiés in-extenso, car ils sont inclus dans un travail effectué par un de ses assistants sur les « variations des oses dans le *B. cordifolia* au cours de la végétation », travail terminé d'ailleurs, et sur le point de sortir.

Nous n'avons appris l'existence de l'*arbutine* dans le *B. cordifolia* que par hasard et alors que nos recherches étaient déjà assez avancées, à la lecture d'un ouvrage de MM. les Professeurs Wattiez et F. Sternon ([27]).

Ces auteurs signalent simplement qu'ils ont extrait de l'*arbutine* des feuilles de *B. cordifolia* sans indiquer dans quelles proportions.

Avant d'exposer nos recherches, rappelons brièvement quelques-uns des caractères les plus importants de l'*arbutine* et les plantes dans lesquelles elle a été isolée.

L'*arbutoside* est un mono-hétéroside dédoublable par l'émulsine.

Kawalier l'a isolée le premier en 1852, donc bien avant que l'on connaisse la technique biochimique, des feuilles

d'*Arctostaphylos uva-ursi*, où elle existe mélangée à la *méthyl-arbutine*.

Depuis cette époque, l'*arbutine* a été trouvée dans bien d'autres plantes, surtout il est vrai dans la famille des Ericacées. C'est ainsi que cet hétéroside est connu dans *Vaccinium myrtillus* (L.), *Pyrola umbellata* (L.), *Gaultheria procumbens* (L.), *Chimaphila maculata* (Pursh), etc.

En 1910, grâce à la technique biochimique cette fois E. Bourquelot et Mlle A. Fichtenholz [28] ont isolé de l'*arbutine* très facilement et en notable proportion des feuilles de *Pyrus comunis* var. *cult.*

En 1930, Tschitschibabin et ses collaborateurs [29] isolèrent 12 % d'*arbutine* des feuilles de *B. crassifolia* (L.) Engl. (matériel sec).

M. Wattiez en trouva encore plus récemment, comme nous l'avons indiqué plus haut, dans les feuilles de *B. cordifolia* (Haw) A. Br.

Enfin, en avril 1936, A. Meunier [30] en décela en très grande quantité dans les feuilles (12 à 15 %), dans les fleurs (20 %) et même dans les graines (non seulement dans les téguments, mais également dans les cotylédons décortiqués) de *Lathyrus niger* (Bernh.).

L'*arbutoside* est dédoublable par l'émulsine, c'est le glucoside β de l'hydroquinone, c'est de plus un monohétéroside ; en l'hydrolysant soit par l'émulsine, soit par un acide on obtient en effet à côté d'une molécule d'hydroquinone une seule molécule de glucose.

$$C_{12}H_{16}O_7 + H_2O \rightarrow C_6H_{12}O_6 \quad C_6H_4 \begin{matrix} OH\ (1) \\ OH\ (4) \end{matrix}$$

L'*arbutine* est à peu près insoluble dans l'éther et dans le chloroforme, elle est soluble dans l'eau, surtout à chaud et dans l'alcool. Son point de fusion est 196°. En solution aqueuse elle présente un pouvoir rotatoire de — 65° et ne réduit pas la Liqueur de Fehling.

Avec l'acide nitrique, l'*arbutoside* donne une teinte orangée (Chemineau) [31].

Avec le perchlorure de fer, on obtient une coloration bleue (Schiff).

Avec le réactif de Jungmann : (1 gr. phosphomolybdate de soude, plus 10 cc. d'acide chlorhydrique concentré, plus 20 cc. d'eau), l'*arbutine* donne une teinte bleu saphir après addition d'ammoniaque.

La *méthylarbutine* ne donne ni cette réaction ni celle du perchlorure de fer.

Avant d'effectuer le dosage de l'*arbutoside*, nous avons essayé de localiser ce principe dans la feuille de *B. cordifolia* par quelques réactions microchimiques.

La réaction au perchlorure de fer n'a pu être pratiquée, à cause de l'abondance de tanin. La méthode de Chemineau ([31]), qui consiste à employer l'acide nitrique dilué au quart de son volume ou même additionné simplement d'eau dans la proportion de un volume pour deux volumes d'acide nitrique, nous a donné de bons résultats.

Les coupes ont été plongées dans le réactif et nous les y avons laissées trois à quatre minutes ; après ce temps, elles présentaient un aspect rougeâtre à l'œil nu ; nous les avons alors montées en glycérine et examinées.

Dans la nervure : l'hétéroside se trouve en abondance dans les cellules des deux épidermes, dans l'endoderme, les rayons médullaires, la périphérie et le centre du faisceau libéro-ligneux.

Dans le mésophylle : l'hétéroside se trouve localisé dans des cellules disséminées çà et là, et au voisinage de l'épiderme, dans presque toutes les cellules.

D'autre part nous avons constaté que le réactif de Braemer (actétotungstate de sodium) donnait un précipité dans les cellules qui se sont colorées en orangé par l'acide nitrique, et où la vanilline chlorhydrique a donné une teinte rouge. Nous en avons conclu que l'*arbutoside* doit se trouver dans les mêmes cellules que le tanin. Rappelons à ce propos que l'*arbutoside* se trouve localisé dans les mêmes cellules que le tanin dans l'*Arbutus unedo* (L.) et l'*Arctostaphylos uva-ursi* (L.) ([32]).

Recherches personnelles sur l'hétéroside de la feuille de B. cordifolia

Dans l'ignorance des travaux qui ont amené M. le Professeur Wattiez à la découverte de l'*arbutine* dans la feuille de *B. cordifolia*, nous sommes partie des expériences de Mlle Braeke.

Pour nous orienter dans nos recherches, nous avons effectué après elle des essais biochimiques sur la feuille fraîche et stabilisée de *B. cordifolia*.

Avant d'exposer ces essais, nous rappellerons en quoi consiste la méthode biochimique de Bourquelot ([33]) pour la recherche et la caractérisation des hétérosides dédoublables par l'émulsine.

Cette méthode consiste à stabiliser un végétal frais, autant que possible entier par l'alcool bouillant, à éliminer l'alcool et à faire agir l'émulsine sur le résidu dissous dans l'eau (de telle sorte qu'1 cc. de solution corresponde à 1 gr. de plante fraîche) après avoir noté au préalable le pouvoir rotatoire du liquide aqueux stabilisé et avoir dosé les sucres réducteurs par la méthode de Bertrand.

Après action de l'émulsine on redose les sucres réducteurs et on refait une lecture polarimétrique.

S'il existait un hétéroside, l'émulsine l'a dédoublé et le pouvoir rotatoire a changé tandis que les sucres réducteurs ont augmenté.

Il reste alors pour caractériser l'hétéroside à calculer son indice de réduction enzymolytique.

« L'indice de réduction enzymolytique est le poids en milligr. de produits réducteurs exprimés en glucose, formé dans 100 cc. de solution correspondant à 100 gr. de plante fraîche sous l'influence de l'émulsine, pour un changement de rotation de 1° observé à l'aide du tube de 2 décimètres ».

Toutes les fois qu'on trouve le même indice de réduction, on peut conclure qu'on est en présence du même glucoside.

Cette méthode biochimique, qui est une excellente méthode de recherche qualitative, n'a pas toutefois la rigueur d'une méthode chimique étant donnée la complexité du

milieu sur lequel elle est pratiquée. En recommençant plusieurs fois les mêmes expériences, il y a des chances pour qu'on trouve des résultats comparables, mais non exactement identiques.

Mlle Braeke ignorait au moment où elle étudia le noircissement des feuilles de *B. cordifolia* que l'hétéroside décelé par elle libérât à l'hydrolyse un aglycone réducteur, l'hydroquinone.

En dosant les sucres réducteurs, après action de l'émulsine, elle dosait également l'hydroquinone ce qui faussait ses résultats en augmentant l'indice de réduction ; c'est ainsi qu'elle trouva cet indice égal à 750, alors que celui de l'*arbutoside* est de 700.

Mlle Braeke a de plus effectué ses essais en faisant agir les diastases, invertine d'abord, émulsine ensuite (*), sur des liqueurs non déféquées, ou partiellement déféquées, ou complètement déféquées, par rapport à la coloration bleue obtenue avec le perchlorure de fer.

Elle constata que l'action des diastases était beaucoup plus grande dans les liquides déféqués que dans les liquides non déféqués. Ceci s'explique par l'action paralysante du tanin sur la sucrase et la glucosidase β déjà démontrée par Mlle A. Fichtenholz.

Personnellement nous avons fait agir les ferments sur des solutions déféquées, mais partiellement seulement, alors que le perchlorure de fer donnait encore une teinte bleu clair car l'*arbutoside* a la propriété de se colorer en bleu en présence de ce réactif.

Pour effectuer les essais biochimiques, nous avons opéré comme il est indiqué, sur une solution aqueuse stabilisée de *B. cordifolia.*

Préparation de l'extrait aqueux stabilisé de B. cordifolia :

100 gr. de feuilles entières fraîches de *B. cordifolia* ont ét précipités feuille par feuille dans un ballon de trois

(*) L'émulsine pouvant contenir des traces d'invertine, capables de dédoubler certains sucres, et de donner par là des résultats erronés, il est recommandé de faire agir d'abord cette dernière.

litres contenant 500 cc. d'alcool à 95° bouillant, additionné d'une pincée de carbonate de chaux pour saturer les acides organiques existant normalement dans la plante et susceptibles de provoquer une hydrolyse. On a eu soin de ne pas interrompre l'ébullition qui a été ensuite maintenue pendant une heure au réfrigérant à reflux.

La solution alcoolique a été recueillie ; les feuilles pressées et divisées ont été reprises par une nouvelle quantité d'alcool à l'ébullition pendant une heure encore.

Les alcools d'épuisement ont été réunis, puis distillés sous pression réduite, sans dépasser 40°.

D'autre part, la drogue épuisée par l'alcool et desséchée a été finement pulvérisée, mise en suspension dans de l'eau toluénée et abandonnée 48 heures à l'étuve à 37°. Après ce temps le macéré filtré nous a servi à reprendre l'extrait stabilisé distillé à sec. La solution obtenue a été déféquée par le sous-acétate de plomb, de telle sorte qu'elle donne encore une teinte bleu clair avec le perchlorure de fer, puis le plomb a été éliminé par le phosphate disodique, recommandé par Englis et Tsang ([31]) comme entraînant une perte négligeable en sucre et donnant d'autre part un filtrat très limpide.

Cette solution a été complétée à 100 cc. avec de l'eau toluénée, pour éviter les fermentations possibles. Nous avions alors un liquide à peine ambré dont 1 cc. correspondait à 1 gr. de feuille fraîche.

C'est sur cette liqueur que nous avons effectué les essais biochimiques classiques à l'invertine et à l'émulsine.

1° *Détermination des sucres réducteurs préexistant dans la drogue fraîche.*

La solution a été examinée au plarimètre, et on a ajouté 10 % au résultat afin de tenir compte de la défécation.

Ensuite, les substances réductrices ont été dosées dans 20 cc. de solution par la méthode de Bertrand. On a également ajouté 10 % au résultat.

2° *Détermination des sucres hydrolysables par l'invertine.*

Les 75 cc. de solution restants ont été additionnés de 25 centigr. environ d'invertine (*) et abandonnés 4 jours à l'étuve à 37°. Après ce temps, la liqueur a été filtrée ; on en a prélevé 25 cc. qui ont été déféqués par 2 cc. 5 de sous-acétate de plomb, déplombés ensuite par le phosphate disodique et examinés au polarimètre comme précédemment. Les sucres réducteurs y ont ensuite été dosés par la méthode de BERTRAND.

3° *Détermination de l'hétéroside.*

La solution ayant subi l'action de l'invertine a été amenée à l'ébullition et y a été maintenue 10 minutes au B. M. afin de détruire les ferments puis ramenée à son volume initial après refroidissement. Sur cette solution nous avons fait agir l'émulsine (25 cgr. pendant 4 jours, à l'étuve à 37°). Après ce temps, la liqueur a été traitée par le sous-acétate de plomb, puis filtrée et déplombée comme précédemment. Nous avons fait un examen polarimétrique, puis nous avons épuisé le liquide par l'éther éthylique, pour éliminer l'hydroquinone formée par l'action de l'émulsine au cours de l'hydrolyse. Cette hydroquinone en raison de son pouvoir réducteur aurait faussé nos résultats.

Voici les chiffres obtenus qui représentent la moyenne de trois expériences :

Feuilles fraîches cueillies en octobre 1937 :

Rotation (l = 2) :

Avant action des ferments: — 1°6'.
Aprés action de l'invertine: — 2°11'.
Après action de l'émulsine: + 36'.

Sucres réducteurs (pour 100 cc.) :

Avant l'action des ferments: 0 gr. 650 %.
Après action de l'invertine: 1 gr. 311 %.
Après action de l'émulsine: 3 gr. 30 %.

Action de l'invertine :

Changement de pouvoir rotatoire: 1°6'.
Sucres réducteurs formés : 0 gr. 661.
Indice de réduction: 600.

(*) Pour la raison indiquée page 40, on fait agir l'invertine avant l'émulsine.

Action de l'émulsine :

Changement du pouvoir rotatoire: 2°47'.
Sucres réducteurs formés: 1 gr. 94.
Indice de réduction: 697.

L'expérience nous a donc confirmé que nous étions en présence d'*arbutine*, puisque nous avons trouvé comme indice de réduction de l'hétéroside 697, alors que celui de l'*arbutine* est de 700.

D'autre part, l'invertine a donné naissance à 661 milligr. de sucre pour un changement de rotation de 66' et l'indice trouvé est 600, le sucre hydrolysable est donc le saccharose dont l'indice de réduction est égal à 604. Ce résultat concorde également avec celui trouvé par Mlle Braeke (voir page 44 où nous donnons le tableau des résultats obtenus par cet auteur).

Après avoir effectué l'essai biochimique précédent, nous avons pensé qu'il serait intéressant de doser l'*arbutoside*. Nous avons opéré sur la drogue sèche, pour avoir un point de comparaison avec les résultats de Tschitschibabin qui lui-même avait opéré sur le matériel sec.

Celui-ci ([29]) a dosé l'*arbutine* par pesée. Il a extrait l'hétéroside des feuilles desséchées de *B. crassifolia* par traitement de celles-ci à l'eau bouillante. Après concentration sous pression réduite, il a abandonné l'extrait obtenu pendant trois jours ; après ce temps, il y a constaté la présence d'une énorme quantité de cristaux ; après un jour, cette cristallisation était d'ailleurs commencée.

Après trituration au mortier, il a traité la masse par un mélange alcool-éther, et filtré, ceci à plusieurs reprises. Le résidu cristallisé, resté sur le filtre, était déjà beaucoup plus pâle. Après dessication dans le vide sulfurique, il obtint de l'*arbutine* parfaitement blanche.

Tschitschibabin avait opéré sur une grande quantité de matériel ; étant donné que nous n'avions à notre disposition qu'une quantité assez restreinte de *B. cordifolia*, nous n'avons pas employé la méthode pondérale pour le dosage de l'hétéroside.

TABLEAU DES RÉSULTATS OBTENUS PAR Mlle BRAEKE
dans ses essais biochimiques sur la feuille de B. cordifolia

Feuilles pétiolées

Date de la récolte : 30 septembre 1930

	Pas de défécation	Défécation par rapport à la réaction violette du perchlorure de fer	
	I	Partielle II	TOTALE III
Rotation (1 = 2)			
Avant l'essai	−1° ,1′	−1° ,2′	−52′
Après action de l'invertine ...	−1° ,37′	−2°	−1° ,41′
Après action de l'émulsine ...	+ 29′	+ 49′	+ 29 ′
Sucres réducteurs (pour 100cc)			
Avant l'essai	0 gr 667	0 gr 534	0 gr 374
Après action de l'invertine ...	1 gr 176	1 gr 074	0 gr 867
Après action de l'émulsine ..	2 gr 352	3 gr 073	2 gr 493
Par l'invertine			
Changement de rotation	36 ′	58′	49′
Sucres réducteurs formés	0 gr 509	0 gr 540	0 gr 493
Indice de réduction	848	559	603
Par l'émulsine			
Changement de rotation	2° ,6′	2° ,43′	2° ,10′
Sucres réducteurs formés	1 gr ,176	2 gr 019	1 gr 626
Indice de réduction	560	743	750

Pour doser l'*arbutoside*, nous avons employé deux méthodes :

1° Dosage de l'aglycone après dédoublement de l'hétéroside ;

2° Dosage des sucres réducteurs formés par hydrolyse de l'hétéroside.

Avant d'effectuer ces dosages, nous avons desséché rapidement et à faible température (moins de 20°) dans un endroit ventilé (sur un rebord de fenêtre) 500 gr. de feuilles retournées fréquemment pour que les deux faces soient alternativement à l'air. Nous avons eu soin d'éviter que les feuilles ne soient superposées.

Cette opération a été menée avec le plus grand soin, car on se souvient en effet que la feuille de *B. cordifolia* contient de l'invertine et de l'émulsine, qui ne manquent pas d'agir au cours de la dessication.

Le matériel sec a été finement pulvérisé et introduit dans un flacon fermant à l'émeri.

Les expériences ont porté sur une drogue obtenue en mélangeant des poudres de feuilles cueillies entre mai et novembre 1937.

Dosage de l'arbutoside de la feuille de B. cordifolia (matériel sec) :

1° *Par dosage de l'aglycone après interversion.*

Nous avons employé la méthode de Zechner ([35]) relativement simple, assez récente, et qui donne de bons résultats.

Cette méthode consiste à doser par iodométrie l'hydroquinone libérée par l'hydrolyse de l'*arbutoside* dans des conditions bien déterminées.

La méthode peut se résumer comme suit :

5 gr. de drogue sont épuisés par percolation lente au moyen de 400 cc. d'eau. Le percolé est déféqué à l'extrait de Saturne et filtré après repos. Le filtrat débarrassé du plomb par l'hydrogène sulfuré et additionné de l'eau de lavage du sulfure de plomb (150 cc.) est concentré sous pression réduite, jusqu'au volume de 10 cc. environ.

Ces 10 cc. sont alors transposés quantitativement dans une ampoule à décantation. Le ballon de distillation est rincé à l'eau de manière à donner en tout 25 cc. de solution, qui sont épuisés à quatre reprises avec chaque fois 25 cc. d'éther. Cette extraction a pour but de séparer l'hydroquinone libre qui peut préexister dans la drogue ou se former au cours de la dessication et de la conservation, et fausser ainsi le résultat final.

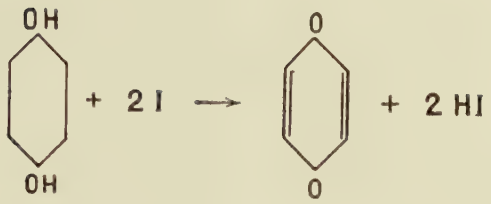
Les solutions éthérées d'hydroquinone réunies sont agitées avec un peu de gomme arragante et filtrées. Après distillation de l'éther, le résidu est dissous dans de l'eau et l'hydroquinol pourra être titré directement comme on le verra plus loin, au moyen de liqueur d'iode décinormale.

La solution aqueuse dont on vient d'extraire l'hydroquinone est introduite dans un ballon jaugé de 50 cc., l'ampoule à décantation est rincée avec de l'eau distillée, qui sert à compléter le volume jusqu'au trait de jauge. On filtre sur un petit filtre plissé sec et on prélève du filtrat à trois reprises, 10 cc., qui sont introduits dans trois vases d'Erlenmeyer.

On ajoute à chacun d'eux de l'acide sulfurique, puis on les soumet à l'hydrolyse, par ébullition douce pendant une heure, au réfrigérant à reflux; lorsque l'hydrolyse est terminée, on ajoute de la poudre de zinc qui réduit la quinone ayant pu se former au cours de l'opération.

Le contenu des trois vases d'Erlenmeyer est filtré, ceux-ci ainsi que les filtres sont soigneusement lavés jusqu'à obtention de 150 cc. de solution. Dans cette solution, au préalable alcalinisée par du bicarbonate de soude chimiquement pur, on titre l'hydroquinone provenant de l'hydrolyse glucosidique en l'oxydant en quinone par la liqueur d'iode décinormale ; une solution d'empois d'amidon sert d'indicateur. La fin de la titration est obtenue quand la coloration bleue se maintient pendant une minute. On note les chiffres obtenus dans chacune des trois oxydations et on prend la moyenne.

La réaction d'oxydation de l'hydroquinol est la suivante :



Nous voyons qu'une molécule d'hydroquinol correspond à deux molécules d'iode ; sachant d'autre part qu'une molécule d'hydroquinol correspond à une molécule d'*arbutoside* (P.M.: 272) les calculs sont très simples: de la quantité d'iode trouvée il est facile de tirer le poids d'*arbutoside* contenu dans la prise d'essai. Supposons qu'il faille X cc. d'iode N/10 pour obtenir la fin de la titration, sachant que 1 cc. d'iode N/10 correspond à 0 gr. 0127 d'iode, le poids d'*arbutoside* contenu dans la prise d'essai nous sera donné par la formule suivante :

$$\frac{(0{,}0127 \times X) \times 272}{254}$$

Nous avons suivi fidèlement le mode opératoire ci-dessus indiqué sauf en ce qui concerne la percolation prescrite au début. En effet, la feuille de *B. cordifolia* contenant de l'émulsine et de l'invertine ou tout au moins des diastases analogues, nous aurions eu en milieu aqueux un dédoublement partiel de l'hétéroside.

Pour éviter cette cause d'erreur nous avons préparé en partant de 10 grammes de drogue un extrait stabilisé à l'alcool bouillant comme pour les essais biochimiques. Cet extrait a été repris par l'eau, la solution filtrée a été concentrée sous pression réduite jusqu'à 20 cc. et divisée en deux parties égales.

10 cc. ont été versés dans une ampoule à décantation, complétés à 20 et épuisés par l'éther à quatre reprises pour éliminer l'hydroquinol formé au cours de la dessication de la drogue. Les 10 autres cc. ont été conservés pour effectuer un second essai.

L'hydroquinol n'ayant jamais été décelé à l'état libre dans le végétal frais stabilisé, il est clair que l'hydroquinol que nous doserons ici provient de l'*arbutoside* qui a pu se diviser au cours de la dessication et de la conservation.

Après élimination de l'éther, le phénol abandonné a été dissous dans l'eau et titré comme il est indiqué plus haut par une solution décinormale d'iode, en présence d'empois d'amidon.

Il nous a fallu 6 cc. 1 d'iode N/10 pour obtenir une teinte bleue persistant une minute. La prise d'essai correspondant à 5 grammes de drogue, la quantité d'hydroquinol préexistant dans la plante sèche, est égale à :

$$0{,}055 \times 6{,}1 \times 20 = 0 \text{ gr. } 67 \text{ \%}.$$

La quantité d'*arbutoside* dédoublée au cours de la dessication serait donc de :

$$\frac{272 \times 0{,}67}{110} = 1 \text{ gr. } 656 \text{ \%}.$$

La solution aqueuse débarrassée de l'hydroquinol a été amenée à 50 cc. dans un ballon jaugé ; nous avons filtré et prélevé du filtrat à trois reprises, 10 cc. qui ont été introduits dans trois Erlenmeyer, additionnés d'acide sulfurique et soumis à l'hydrolyse par l'ébullition douce pendant une heure, comme nous l'avons indiqué plus haut. Après addition de poudre de zinc pour réduire la quinone ayant pu se former au cours de cette opération et filtration nous avons dosé l'hydroquinone dans les trois Erlenmeyer avec la solution d'iode N/10. Il nous a fallu (moyenne de six dosages) :

0 cc. 95 d'iode N/10 pour obtenir le terme de la titration.

La feuille desséchée de *B. cordifolia* contient donc :

$$\frac{(0{,}95 \times 0{,}0127) \times 272 \times 100}{254} = 12 \text{ gr. } 90 \text{ \% d'}\textit{arbutoside}.$$

2° *Dosage de l'arbutoside par évaluation des sucres réducteurs produits par son hydrolyse.*

Nous avons prélevé 10 cc. (correspondant à 1 gr. de drogue), de la solution hydrolysée sur les 20 qui restaient dans le ballon jaugé de 50 cc. ; après les avoir dilués à 20 environ nous les avons épuisés quatre fois par l'éther pour enlever tout l'hydroquinol.

La solution épuisée complétée à 40 cc. a été divisée en quatre parties de 10 cc. correspondant chacune à 0 gr. 25 de feuille. Sur ces quatre portions de 10 cc. nous avons effectué quatre dosages de sucres réducteurs par la méthode de BERTRAND.

Il nous a fallu en moyenne 7 cc. 4 de permanganate de potasse, ce qui correspond à 74 milligr. de cuivre, donc à 38,55 milligr. de sucre interverti.

La prise d'essai contenait 38 milligr. 55 de sucre interverti.

La teneur de la solution en sucre interverti est donc de :

$$0{,}038 \times 4 \times 100 = 15 \text{ gr. } 20\ \%.$$

Or, nous avions trouvé un total de sucres réducteurs après action de l'invertine (sucres réducteurs préexistants plus sucres hydrolysés exprimés en glucose) de 6 gr. 612.

La quantité de glucose provenant de l'hydrolyse de l'*arbutoside* est donc de :

15 gr. 20 — 6 gr. 612 = 8 gr. 588, ce qui correspond à :

$$\frac{272 \times 8{,}588}{180} = 12 \text{ gr. } 976\ \%\ \text{d'}\textit{arbutoside}.$$

Ce résultat est plus fort que celui obtenu par dosage de l'aglycone.

Cette différence peut provenir de ce que l'hydrolyse acide a touché en dehors du saccharose, un autre sucre hydrolysable (*).

(*) Ce sucre hypothétique n'existerait en tous cas qu'en très petite quantité étant donné que l'indice obtenu (600), lors de l'action de l'invertine dans l'essai biochimique, est à très peu de chose près celui du saccharose (604).

II. — LES SUCRES

Les travaux concernant les sucres ont été effectués sur un extrait stabilisé, obtenu par action de l'alcool bouillant sur 100 gr. de drogue sèche. Après évaporation de l'alcool sous pression réduite, le résidu a été repris par l'eau de manière qu'1 cc. de solution aqueuse stabilisée corresponde à 0 gr. 50 de drogue.

A. — Analyse quantitative

1° *Extraction* : 150 cc. environ de solution aqueuse stabilisée ont été déféqués complètement par le sous-acétate de plomb ; après filtration (*) le plomb a été chassé par un courant lent et prolongé d'hydrogène sulfuré, dont l'excès a été éliminé à son tour par un courant de gaz carbonique. La liqueur filtrée a été neutralisée par le carbonate de soude et réduite au B. M. jusqu'à consistance de sirop épais. Ce sirop a été traité à deux reprises par un mélange de deux volumes d'alcool pour un volume d'éther, cette opération ayant pour but d'insolubiliser les matières gommeuses qui n'auraient pas été précipitées par le sous-acétate de plomb. Les liqueurs éthéro-alcooliques réunies ont été concentrées sous pression réduite. Sur le résidu le traitement à l'alcool-éther a été recommencé pour achever l'élimination des gommes. Ensuite les solutions ont été filtrées et concentrées à nouveau sous pression réduite, jusqu'à sec. Le résidu dissous dans 60 cc. d'eau distillée, a donné une liqueur que nous avons décolorée par le noir animal Poulenc, en ayant soin d'ajouter quelques gouttes d'acide acétique qui empêche l'adsorption des sucres par le charbon. Après quatre heures de contact, la liqueur filtrée était encore un peu ambrée ; nous l'avons divisée en deux parties, un tiers a été évaporé à siccité pour obtenir les sucres à l'état cristallisé, le reste a été employé directement.

(*) Les précipités plombiques ont été conservés pour la recherche ultérieure des acides organiques.

2° *Recherches qualitatives générales* :

A) *Sucres réducteurs* (aldoses et cétoses).

1° Propriétés réductrices en milieu alcalin :

a) liqueur cupro-alcaline: précipité rouge abondant de Cu2O ;

b) acide picrique en milieu sodique: coloration rouge intense dûe à la formation d'acide picramique ;

c) bichlorure de mercure + soude: précipité gris formé à l'ébullition et dû à la réduction du mercure métallique ;

d) nitrate d'argent ammoniacal: miroir d'argent ;

e) sous-nitrate de bismuth + soude : précipité blanc, puis noir à l'ébullition.

2° Caramélisation :

Quelques cc. de solution chauffée avec de la soude: coloration brune.

B) *Pentoses et hexoses.*

Réaction furfuriques :

Principe : Un sucre réducteur chauffé avec un acide de concentration convenable donne un composé qui peut être condensé avec un phénol pour développer une réaction colorée.

1° Réaction de Bertrand (appelée réaction de Tollens en Allemagne) ([36]) : Un peu de résidu chauffé avec 2 à 3 cc. d'acide chlorhydrique concentré et quelques milligrammes d'orcine au B. M. à 50° donne avec les hexoses ou les méthylpentoses, une coloration rouge-orangé, avec les pentoses une coloration bleu-violacé.

Nous avons obtenu une coloration rouge-orangé.

2° Réaction de Bial ([37]) : 5 cc. de réactif de Bial : (orcine : 0,2, H Cl : 100, Fe2 Cl6 officin.) : 5 gouttes, sont portés à l'ébullition, puis éloignés de la flamme et additionnés de 5 gouttes de solution sucrée. En présence de pentose, il se développe une coloration verte.

La réaction a été négative.

C) *Caractérisation des cétoses.*

1° Réaction de Sélivanoff ([38]) :

On chauffe 30 cc. d'acide chlorhydrique dilué de son volume d'eau avec quelques milligrammes de sucre et quelques cristaux de résorcine. En présence de cétose on obtient une coloration rouge.

Cette réaction a été positive.

2° Réaction de Rosenthaler ([39]) :

On chauffe 3 cc. d'acide chlorhydrique avec un peu de solution sucrée et quelques cristaux de vanilline ; on doit obtenir, en présence de cétose, une coloration rose.

La réaction a été positive.

D) *Caractérisation des aldoses.*

1° Réaction de Berg ([40]) :

Les aldoses donnent avec de l'eau de brome fraîchement préparée et en excès par chauffage au B. M. pendant 10 minutes à la température de 60-70°, des acides-alcools. Ceux-ci avec le perchlorure de fer en milieu très légèrement chlorhydrique (Fe2Cl6, 4 gouttes + HCl concentré, 2 gouttes + H2O 100 cc.) donnent une coloration jaune.

La réaction a été positive.

2° Réaction de Tollens et Rosive ([41]) :

Quelques cc. de solution sucrée chauffés avec quelques milligrammes de mélange naphtol-résorcine à parties égales et de l'acide chlorhydrique, donnent un précipité noir, soluble dans l'alcool à 95° en développant une teinte violette fluorescente.

La réaction a été positive.

E) *Recherches qualitatives particulières.*

1° Recherche du glucose :

Réaction de Neumann ([42]) : 1 cc. de solution sucrée + 5 cc. d'acide acétique cristallisable + 5 cc. de solution alcoolique d'orcine à 5 %, sont amenés à l'ébullition. Dans la liqueur bouillante, on verse goutte à goutte de l'acide sulfurique concentré jusqu'à apparition d'une couleur distincte (il faut environ 30 à 40 gouttes d'acide sulfurique). Dans ces conditions :

L'arabinose doit donner une coloration rouge-violet.

Le xylose doit donner une coloration violet-bleu.

Le glucose une coloration rouge-brun.

Nous avons obtenu une coloration rouge-brun.

2° Recherche du glucose et du lévulose :

Par la formation d'osazone :

Les sucres aldéhydiques et cétoniques ont la propriété de se combiner avec les hydrazines pour donner à froid des hydrazones, dont les caractères de solubilité ou de cristallisation permettent de caractériser certains d'entre eux, et à chaud des osazones. Ces composés généralement insolubles dans l'eau cristallisent en donnant des formes caractéristiques des différents sucres.

Le glucose et le lévulose donnent la même osazone ; elle est cristallisée en longues aiguilles jaunes, groupées le plus souvent en faisceaux, en pinceaux ou en éventails, et dont le point de fusion est d'environ 230°.

On obtient les osazones en opérant de la façon suivante :

On met dans un tube et on chauffe au B. M. jusqu'à l'ébullition : 2 cc. de solution sucrée + 1 cc. de phénylhydrazine + 1 cc. d'acide acétique cristallisable + 1 cc. d'acétate de sodium en solution aqueuse à 25 %.

On maintient l'ébullition une heure et demie et on laisse refroidir le tout dans le B. M. Ce refroidissement très lent donne des cristaux plus gros et de formes plus nettes.

Les osazones sont ensuite filtrées, lavées à l'eau acétique et examinées au microscope.

Nous avons obtenu les formes caractéristiques de la glucosazone. Le point de fusion au bain de mercure s'est révélé égal à 211° et est monté à 217° après lavage par l'alcool méthylique.

3° Recherche du saccharose :

Réaction de Papasogli : Quelques cc. de solution sucrée sont additionnés de quelques gouttes de solution aqueuse de nitrate de cobalt à 5 % et d'un excès de soude (D = 1,33).

En présence de saccharose, la liqueur prend une teinte améthyste. Le glucose donne une coloration bleue qui passe rapidement pour tourner au vert sale.

Nous avons obtenu une coloration violette un peu plus foncée que celle que nous a donnée une solution de saccharose pur. Nous avons conclu à la présence simultanée de glucose et de saccharose.

4° Recherche du galactose :

Nous avons employé la méthode de Tollens ([44]).

Le liquide sucré est traité dans un cristallisoir par 50 cc. d'acide nitrique (D = 1,15) au B. M. bouillant. On maintient l'ébullition jusqu'à ce que le volume du liquide soit réduit à 10 cc. environ. Dans ces conditions, le galactose est oxydé et donne par addition de quelques cc. d'eau des cristaux d'acide mucique.

Ces cristaux sont prismatiques, incolores, insolubles dans l'eau, et intégralement solubles dans l'ammoniaque.

Cette réaction a été négative.

5° Recherche du mannose et du galactose sur la même prise d'essai par la méthode de Votocek-Vondracek ([45]) :

Cette méthode est basée sur la faible solubilité de la galactose méthyl-phényl-hydrazone.

La solution sucrée à étudier, traitée à froid et en milieu acétique par de la phényl-hydrazine, donne un précipité de mannose phényl-hydrazone, en présence de ce sucre. Cette hydrazone est cristallisée en oursins. On sépare les cristaux par filtration, puis on traite le filtrat par de la méthyl-phényl-hydrazine en solution alcoolique-acétique.

Dans ces conditions, en présence de galactose, on obtient un précipité de galactose-méthyl-phényl-hydrazone, sous forme de grandes lamelles étroites, incolores et brillantes, plus ou moins enchevêtrées.

Cette recherche a été négative.

En résumé, les sucres existant dans la feuille de *B. cordifolia* à l'état libre (c'est-à-dire solubles dans l'eau) seraient constitués essentiellement par du glucose, du lévulose et du saccharose.

B. — Analyse quantitative

Elle a été effectuée sur une solution aqueuse préparée à partir de l'extrait stabilisé de la feuille (matériel sec), de telle sorte que 1 cc. corresponde à 0 gr. 50 de drogue. Cette solution a été épuisée à l'éther avant d'être employée pour les différents dosages (*).

Nous avons prélevé 2 cc. de solution (1 gr. de drogue) que nous avons amenés à 10 cc. avec de l'eau distillée. Après défécation et filtration, nous avons complété à 20 sur lesquels nous avons effectué un dosage des sucres réducteurs par la méthode de Bertrand.

Il nous a fallu 7 cc. 23 de permanganate de potasse, dont 1 cc. correspondait exactement à 10 milligrammes de cuivre ; ceci nous donnait 37 milligr. 12 de sucre pour 1 gr. de feuilles et 3 gr. 712 %.

Pour doser les sucres hydrolysables, il nous a été impossible de procéder par simple interversion acide, et nouveau dosage des sucres réducteurs, car nous connaissions la présence d'un hétéroside dans la feuille de *B. cordifolia*. Il est bien évident que l'hydrolyse acide aurait considérablement faussé les résultats par suite du dédoublement de l'hétéroside.

Nous avons fait agir l'invertine sur une solution aqueuse préparée comme la précédente à partir de l'extrait stabilisé, de telle sorte qu'1 cc. corresponde à 0 gr. 50 de drogue. Nous avons prélevé 10 cc. de solution qui ont été amenés à 20 par addition d'eau et de toluène, auxquels nous avons ajouté 20 centigrammes d'invertine.

Le tout a été abandonné 4 jours à l'étuve à 37°.

Après ce temps, nous avons filtré et divisé le liquide en quatre parties de cinq cc., chacune correspondant à 1 gr. de drogue. Chacune de ces portions amenée à 20 cc. à servi à faire un dosage de sucre réducteur par la méthode de Bertrand.

(*) Pour éliminer l'hydroquinol qui a pu se former au dépens de l'hétéroside, malgré la stabilisation, et au cours de la dessiccation.

Il nous a fallu 12 cc. 32 de permanganate pour obtenir le virage, autrement dit la prise d'essai (1 gr.) contient 66 milligr. 12 de sucre, soit 6 gr. 612 de glucose %. L'action de l'invertine a donc produit :

6 gr. 612 — 3 gr. 12 = 2 gr. 90 de sucre interverti, correspondant à :

2,90 × 0,95 = 2 gr. 755 de sucre hydrolysable exprimé en saccharose.

III. — GOMME

Nous avons recherché et dosé les substances gommeuses en suivant la technique de Bellier ([46]).

Cette méthode établie pour l'essai du sirop de gomme peut être appliquée en phytochimie, si on a soin d'éliminer au préalable les matières protéiques par coagulation à la chaleur.

Cette méthode est basée uniquement sur la précipitation des gommes par l'alcool fort.

On épuise la poudre végétale par l'eau bouillante et les liquides extractifs filtrés sont traités par de l'alcool à 95°. Sur le précipité formé on s'assure de l'absence d'azote par la réaction du bleu de Prusse.

Le mode opératoire est le suivant :

20 gr. de drogue pulvérisée (matériel sec), sont traités pendant 30 minutes, à deux reprises, par 80 cc. d'eau bouillante, puis filtrés, et le filtrat est amené à 200 cc.

50 cc. de liqueur filtrée (correspondant à 5 grammes de drogue) sont précipités par 150 cc. d'alcool à 95° en présence de 1 cc. d'acide acétique. Après 24 heures de repos, on recueille le précipité sur un filtre desséché et taré au préalable dans un pèse-filtre ; on lave à plusieurs reprises avec de l'alcool à 75°, puis avec de l'alcool à 95° ; on sèche à 100° jusqu'à poids constant et on pèse.

Nous avons obtenu 0 gr. 080 de gomme pour 50 cc. de liqueur, soit 0,080 × 20 = 1 gr. 60 % de drogue.

Cette gomme, qui est brune, a une saveur uniquement mucilagineuse ; elle croque sous la dent et donne la réaction de Bial ; elle contient par conséquent des pentoses.

CHAPITRE IV

Etude des Lipides

Les seules méthodes officielles pour l'extraction et le dosage des matières grasses, préconisent l'épuisement à l'éther de pétrole et au chloroforme dans l'appareil de Soxhlet.

Cependant, les travaux de plusieurs auteurs (Inaba [47], Terroine [48], Lobstein [49] et leurs élèves [50], etc.) ont montré que la technique de Schimidzu, réalisée à l'aide de l'appareil de Kumagawa-Suto, constitue le procédé de choix pour enlever les lipides des tissus végétaux aussi bien que des tissus animaux.

Le solvant employé est l'alcool fort.

Il semble paradoxal que l'alcool, employé comme liquide d'épuisement, donne de meilleurs résultats que le chloroforme ou l'éther de pétrole, solvants classiques des matières grasses.

Le paradoxe n'est qu'apparent.

En effet, dans l'appareil des chimistes japonais, la cartouche est disposée de telle façon qu'elle plonge dans les vapeurs du solvant. L'extraction se fait donc au voisinage du point d'ébullition de l'alcool (78°4), c'est-à-dire à température élevée.

D'autre part, l'alcool est miscible à l'eau et par suite pénètre mieux les substances à épuiser, qui même desséchées, sont toujours un peu humides.

Dans l'appareil de Soxhlet, l'alcool donne, pour les mêmes raisons, de meilleurs résultats que le chloroforme ou l'éther de pétrole.

Nous basant sur les résultats antérieurement acquis, nous avons employé la méthode de Kumagawa-Suto, modifiée par Lemeland.

Les feuilles sont des organes végétaux qui contiennent généralement très peu de lipides.

L'extraction de ceux-ci à partir de notre drogue nous a semblé néanmoins intéressante, ne serait-ce que pour la recherche et le dosage du phytostérol.

On attribue en effet une importance de plus en plus grande aux stérides, alcools de poids moléculaire élevé, qui constituent les cholestérines végétales. Or, les stérides, appelées encore phytostérols, par opposition aux cholestérols, s'obtiennent à partir de l'insaponifiable.

Leur importance vient en grande partie de leurs relations avec des substances douées d'une grande activité physiologique (vitamines, hormones, etc.) ([51]).

1° *Epuisement.*

15 grammes de feuilles de *Bergenia cordifolia* desséchées et finement pulvérisées, ont été épuisés par de l'alcool à 95° pendant 15 heures (au bout de 12 heures, l'alcool siphonnant était encore légèrement colorée en vert). Le liquide d'extraction a été versé dans un ballon taré, et nous avons chassé l'alcool par concentration, sous pression réduite.

La dessication a été achevée à l'étuve à 60° en s'aidant du vide, jusqu'à poids constant.

Nous avons obtenu ainsi 9 gr. 70 d'extrait, soit 64,66 %.

Le solvant a donc enlevé, en dehors des lipides, une grande partie des substances contenues dans la drogue.

2° *Saponification.*

L'extrait contenu dans le ballon a été additionné de 100 cc. de KOH alcoolique 2-N, et le tout a été chauffé pendant deux heures au réfrigérant à reflux. Après ce temps, nous avons ajouté 80 cc. d'eau, le titre alcoolique a été ainsi abaissé à 50° environ, puis nous avons poursuivi le chauffage pendant une demi-heure encore.

En général, dans ces conditions, le liquide devient complètement limpide ; ici, au contraire, nous avons obtenu un léger dépôt, qui d'ailleurs ne nous a pas gênée dans l'extraction de l'insaponifiable.

3° *Extraction de l'insaponifiable.*

La solution alcaline alcoolique a été versée dans une ampoule à décantation et complétée avec l'alcool à 50°

ayant servi à rincer le ballon qui la contenait. Le liquide saponifié a été épuisé à trois reprises, par de l'éther de pétrole lourd (P.E. 50 à 70°) en utilisant successivement 100, 75 et 50 cc. de ce solvant.

La liqueur alcoolique a été soutirée et l'éther de pétrole recueilli dans une deuxième ampoule à décantation, contenant 100 cc. d'eau distillée. Après agitation et repos, l'eau de lavage de l'éther a été ajoutée au liquide de la première ampoule. Dans ces conditions, l'insaponifiable est passé en solution pétrolique, tandis que les acides gras sont restés sous forme de savons dans la solution alcoolique.

La liqueur éthérée a été évaporée au B. M. sous pression réduite, le résidu a été repris par quelques cc. (10) d'éther de pétrole léger (P. E. entre 30 et 50°) et abandonné au repos à la glacière pendant quelques heures.

La solution reposée a été filtrée sur sable-amiante dans un cristallisoir taré, évaporée au B. M. et laissée à l'étuve à 50° jusqu'à poids constant.

Nous avons ainsi obtenu 0 gr. 26 de résidu, soit 1 gr. 731 % d'insaponifiable.

Celui-ci se présente au microscope cristallisé en fines aiguilles et en palmes enchevêtrées, noyées dans une substance de teinte orangée.

Il est à noter en effet que l'insaponifiable et toutes ses solutions (alcooliques, chloroformiques, éthérées, pétroliques) présentent une magnifique coloration d'un jaune orangé éclatant.

4° *Recherche du phytostérol dans l'insaponifiable.*

L'insaponifiable a été dissous dans quelques cc. de chloroforme et cette solution versée dans un ballon jaugé de 50 cc. a été complétée jusqu'au trait de jauge avec du chloroforme. Le phytostérol a été recherché dans ce liquide par les deux réactions classiques de Liebermann et de Hager-Salkowski.

1° Réaction de Hager- Salkowski : Dans un tube à essai contenant 1 à 2 cc. d'acide sulfurique, on ajoute avec précaution 2 à 3 cc. de solution chloroformique. En présence de stérol on obtient une anneau rouge à la surface de séparation des deux liquides.

La réaction a été positive.

2° Réaction de Liebermann : On mélange dans un tube à essai 5 cc. de solution chloroformique avec 1 cc. d'anhydride acétique et 2 gouttes de S04H2 concentré. Il se produit en présence de stérol une coloration bleue, passant rapidement au vert.

Cette réaction a été également positive.

5° *Dosage du phytostérol.*

Deux méthodes étaient à notre disposition pour le dosage du phytostérol :

a) la méthode colorimétrique de Grigaut ([52]) basée sur la réaction de Liebermann, qui consiste à comparer la coloration obtenue avec le phytostérol à doser et celle que donne une solution type de cholestérol.

b) La méthode pondérale de Windaus ([43]), basée sur la propriété qu'a la digitonine de donner des complexes avec les stérols.

Il arrive fréquemment que dans la réaction de Liebermann la teinte verte obtenue avec un phytostérol quelconque appartienne à une gamme bien différente de celle de la solution-type de cholestérol.

C'est ce qui s'est produit dans notre cas. Nous avons adopté pour cette raison la méthode de Windaus, dont voici la technique :

Une quantité connue d'insaponifiable est dissoute dans 10 cc. d'alcool absolu, et chauffée jusqu'à ébullition, pour faciliter la dissolution. On ajoute alors 10 cc. de solution de digitonine à 1 % dans l'alcool absolu. On fait bouillir une minute environ et sans retirer du feu on verse 2 cc. d'eau distillée ; le titre alcoolique passe alors à 90-95°. Il se forme un précipité qui toutefois peut n'apparaître que par refroidissement. On retire du feu et on laisse reposer à la glacière, après avoir couvert le récipient d'un verre de montre. Après 24 heures, on filtre sur un petit filtre taré et desséché au préalable à l'étuve, puis amorcé avec de l'alcool fort (*).

(*) Ne pas dessécher le filtre plus d'un quart d'heure à l'étuve à 110°, ce temps dépassé il deviendrait trop imperméable.

On lave le précipité entraîné sur le filtre à trois reprises avec de l'alcool à 95°, on achève cette opération par un jet d'éther éthylique. On remet le filtre dans un pèse-filtre, on porte le tout à l'étuve pendant une heure, et on pèse.

Le poids du phytostérol est obtenu en multipliant le chiffre trouvé par 0,2431.

Nous avons obtenu 0 gr. 067 de complexe digitonine-stérol, soit 0 gr. 067 × 0,2431 = 0 gr. 0162 de phytostérol pour 0 gr. 13 d'insaponifiable, et pour 7 gr. 50 de drogue. Nous étions donc en présence de 0 gr. 216 de phytostérol pour 100 gr. de feuilles sèches, et 12 gr. 461 de phytostérol pour 100 gr. d'insaponifiable.

6° *Extraction des acides gras.*

La liqueur alcaline-alcoolique réservée après l'extraction de l'insaponifiable (dont le titre alcoolique est maintenant d'environ 25° par suite de l'addition des eaux de lavage), a été versée dans une ampoule à décantation et très nettement acidifiée par l'HCl pour mettre les acides gras en liberté. La solution acide a été épuisée à trois reprises par de l'éther de pétrole lourd (P. E. entre 50 et 70°). Les extraits éthérés, lavés à l'eau pour éliminer l'acide entraîné, et évaporés sous pression réduite, ont laissé un résidu qui a été repris par l'éther de pétrole léger (P. E. 30-50°), abandonné quelques heures au repos et filtré sur sable-amiante.

Le filtrat recueilli dans un flacon taré a été à son tour évaporé sous pression réduite, puis dans le vide, jusqu'à poids constant. Nous avons ainsi obtenu 0 gr. 3065 d'acide gras pour 15 gr. de feuilles sèches, soit 1 gr. 043 %.

Ces acides se présentent à l'œil nu en masse amorphe, brune et onctueuse ; ils présentent une odeur assez désagréable, rappelant celle du moisi. Au microscope, ils apparaissent en aiguilles enchevêtrées.

Etant donnée la petite quantité d'acides gras obtenus, nous n'avons pu faire d'autre détermination que celle de leur point de fusion.

7° *Point de fusion des acides gras.*

Les acides gras liquéfiés ont été introduits sur une longueur de un centimètre environ dans deux petits tubes très étroits, dont les extrémités inférieures ont été fermées à la flamme. Les tubes ont été plongés dans l'eau froide pour solidifier les acides gras. Après un séjour de 48 heures à l'obscurité, le point de fusion a été déterminé et fixant successivement les deux tubes contre le réservoir d'un thermomètre plongeant dans un récipient rempli d'eau, dont la température a été progressivement élevée .

Les lectures ont donné 32°7 et 32°9, soit un point de fusion moyen de 32°8.

CHAPITRE V

Etude des Protides

A. — GÉNÉRALITÉS

On range sous le nom de protides les acides aminés naturels et toutes les substances azotées, peptides et protéides, susceptibles de fournir à l'hydrolyse un ou plusieurs acides aminés.

Les albuminoïdes végétaux ressemblent beaucoup aux protides animaux, sans être cependant identiques.

La constitution colloïdale des protides et leur labilité en présence des réactifs rendent leur étude délicate.

Dans les drogues sèches les protides ont souvent subi par la dessication, outre une coagulation partielle, cause de solubilité diminuée, des actions fermentaires et des hydrolyses qui les ont plus ou moins dégradés.

Cependant, s'il n'est guère possible de caractériser les différents protides, ceux-ci ont été classés en divers groupes qui présentent des réactions communes .

Voici une des classification les plus courantes :

Classification des substances albuminoïdes végétales

1° *Substances albuminoïdes simples ou protéines ou holoprotéines ou holoprotéides, ou homoprotéines.*

a) solubles dans l'eau : *albumines.*

b) insolubles dans l'eau, solubles dans les solutions de NaCl étendu : *globulines.*

c) solubles dans les solutions alcalines faibles : *glutélines.*

d) solubles dans l'alcool faible : *prolamines ou gliadines.*

2° *Protéides ou hétéroprotéides ou protéines conjuguées.* Solubles dans les solutions alcalines faibles. Ne précipitant pas par l'acide acétique à froid.

a) donnent par dédoublement de l'acide phosphorique et des sucres : *nucléoprotéides.*

b) donnent par dédoublement du glucose : *glucoprotéides.*

c) donnent par dédoublement des corps phosphorés constitutifs : *phosphoprotéides.*

d) donnent par dédoublement des substances organo-métalliques colorées : *chromoprotéides.*

Nous nous sommes efforcée de déterminer les principaux groupes auxquels appartiennent les protides contenues dans la feuille de *B. cordifolia* en nous basant sur leur solubilité dans l'eau pure ou salée ou faiblement alcaline, etc...

B. — ANALYSE QUALITATIVE

1° Préparation d'un *extrait aqueux* dans lequel n'ont passé que les albumines proprement dites :

30 gr. de feuilles grossièrement pulvérisées ont été épuisées à deux reprises à la température du laboratoire par 100 cc. d'eau. Chaque macération a duré douze heures.

L'extrait (1) obtenu était d'un brun assez foncé.

2° Préparation d'un *extrait salin* où ont passé les globulines :

Le résidu de l'extraction précédente a été traité pendant 12 heures par une solution de Na Cl à 5 %, puis à 10 %. Après filtration, l'extrait (2) obtenu était brun clair.

3° Préparation d'un *extrait alcalin* qui a dissous les glutélines et les protéides :

La drogue déjà épuisée deux fois a été reprise par une solution aqueuse de potasse à 2 ‰ et abandonnée 24 heures à la glacière, après addition de toluène pour éviter toute action fermentaire que favoriserait le milieu alcalin.

L'extrait obtenu (3) était brun-rouge très foncé, ce qui nous a un peu gênée dans certaines réactions (l'eau alcaline dissout certains produits colorés qui proviennent de la décomposition des tanins).

4° Préparation d'un *extrait alcoolique* à 70° où seraient passés les gliadines ou prolamines :

30 gr. de drogue ont été traités par 100 cc. d'alcool à 70°, et la solution alcoolique a été évaporée à siccité au B. M. sous pression réduite. Le résidu a été repris par l'eau acidulée à l'acide chlorhydrique, et nous avons obtenu l'extrait (4) brun-verdâtre.

Les quatre solutions, soumises à l'action des réactifs généraux des albuminoïdes, nous ont révélé la présence dans notre drogue, des groupes de protides suivants :

Albumines, globulines, glutélines (*). (Voir tableau page 66).

C. — ANALYSE QUANTITATIVE

I. — Destruction de la matière organique

Le dosage de l'azote par voie humide a fait couler beaucoup d'encre depuis une cinquantaine d'années.

Toutes les méthodes proposées ont cependant un principe commun: la transformation de la matière organique azotée en gaz carbonique ammoniaque et eau, sous l'influence à la fois oxydante et hydrogénante de l'acide sulfurique concentré, au voisinage de son point d'ébullition.

L'équation est la suivante :

$$2\,N + 3\,C + 3\,S\,O4\,H2 = 2\,N\,H3 + 3\,C\,O2 + 3\,S\,O2$$

Beaucoup de substances ont été proposées pour aider l'attaque sulfurique ; Kjeldahl, le premier, proposa le permanganate de potasse en 1883. Les substances ordinairement employées dans le même but peuvent être classées comme suit :

1° Simple élévateurs de température ([53]).

2° Oxydants: Méthode de Lematte-Boinot et Rahane ([54]). Destruction par SO4H2 et ClO4H.

3° Catalyseurs: Méthode de Sörensen et Andersen ([55]). Attaque de la substance par SO4H2 et SO4Cu.

(*) L'absence de gliadines ou prolamines nous a paru très naturelle. Nous n'avions préparé cet extrait que par acquit de conscience. Ce groupe de protides un peu spécial n'a jusqu'ici été trouvé que dans des graines (graminées, légumineuses).

RÉACTIONS	Extrait I	Extrait II	Extrait III	Extrait IV
1° De précipitation				
Fe (CN) 6 K4	↓ brun grisâtre	Louche	— (*)	Pas de ↓
HgC12	↓ jaune sale	Louche		
SO4Cu	↓ gris verde	léger ↓ verd.		
(CH3C02) 2 Pb	↓ jaunâtre	↓ abondant jaunâtre		
SO4Na2 à saturation	Louche	Louche	Louche	—
SO4Mg à saturation	—	Louche	Louche	—
Acide picrique	—	Louche	Louche	—
Chaleur+ac. acétique	—	Louche, puis. ↓	Louche	—
Chaleur +ac acét. +SO4NA2	↓	Louche	Louche	—
Alcool	↓	—	↓	—
H Cl	↓	—	Teinte pâlit. puis, ↓	—
NO3 H	accentue coloration	—	,, ,,	—
Rif de Bouchardat	↓ brun	↓ brunâtre		—
» de Dragendorff	↓ brun	↓ brunâtre		—
» de Bertrand	—	—		—
2° De coloration				
Réaction xanthoprotéique	positive	positive	positive	négative
Réaction de MILLON	positive	positive	positive	—
Réaction de la cystine	positive	négative	négative	—
Réaction du biuret	négative	négative	négative	—

(*) Les réactifs des alcaloïdes n'ont pu être employés puisqu'ils nécessitent une acidification du milieu.

4° Réducto-catalyseurs : Méthode de Deniges ([56]). Attaque de la substance par SO4H2 et (C00K)2.

(Ici nous avons bien en effet une réducto-catalyse, car C00K)2 agit autant par les propriétés réductrices de C00H)2 que par l'action catalytique du S04K2 qu'il engendre).

5° Oxydo-calalyseurs : Méthode de Kjeldahl. S04H2 + MnO4K, en présence de mercure ([57]).

Nous avions donc le choix entre ces différentes méthodes. Cependant, des essais comparatifs antérieurs effectués au Laboratoire de Matière médicale de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg ([58]), il résulte que l'oxydo-calalyse mercurique constitue la méthode de choix.

D'autre part, dans un autre travail effectué au même Laboratoire ([59]), un auteur a employé de préférence la méthode catalytique au sulfate de cuivre car dans la méthode au mercure il faut éliminer celui-ci à l'hypophosphite de soude, d'où filtrations difficiles, souvent longues et risques de perte par des manipulations répétées.

Nous avons employé successivement la méthode au sulfate de cuivre et la méthode au mercure, pour juger par nous-même de leurs avantages et de leurs inconvénients.

a) *Attaque de la substance par l'acide sulfurique et le permanganate de potasse, en présence de mercure* (Kjeldahl-Villiers et Moreau-Talon) ([57]).

Un gramme de feuilles desséchées et pulvérisées a été introduit dans un matras de Kjeldahl, avec 10 cc. d'acide sulfurique concentré pur et un globule de mercure.

Nous avons chauffé à feu nu, doucement, puis plus fort, selon les indications de la méthode.

Lorsque des vapeurs blanches ont commencé à se dégager, nous avons placé un petit entonnoir dans le col du matras. La masse noire puis brune s'est rapidement éclaircie jusqu'à être parfaitement incolore.

Le chauffage a été prolongé d'une demi-heure après ce stade, car le fait que le liquide est incolore ne prouve nullement que l'azote soit entièrement minéralisé ([60]).

Cette opération ne nous a demandé que deux heures. L'oxydation a été achevée par du permanganate de potasse sec en poudre ajouté jusqu'à coloration rosée.

Le liquide a été versé dans un ballon jaugé de 150 cc., les eaux de lavage du matras de KJELDAHL ont été ajoutées au liquide du ballon.

Le mercure qui avait donné une combinaison ammonaco-mercurique a été éliminé par un léger excès d'hypophosphite de soude qui est un réducteur énergique. Nous avons complété au trait de jauge avec de l'eau distillée, agité et laissé déposer. Lorsque le précipité formé a été bien déposé, il nous a paru parfaitement inutile de filtrer ; nous avons pu très facilement faire cinq prélèvements de 10 cc. sans attirer la moindre parcelle de dépôt dans la pipette. En conséquence, l'élimination du mercure nous a paru n'être qu'un inconvénient bien bénin.

b) *Attaque d ela substance par* S04H2 *avec le sulfate de cuivre comme catalyseur* ([56]).

Un gramme de drogue a été introduit dans un matras de KJELDAHL avec 10 cc. d'acide sulfurique concentré pur et un cristal de sulfate de cuivre.

Nous avons chauffé dans les mêmes conditions que précédemment. La décoloration parfaite a été un peu plus longue à obtenir (2 h. 1/2) et nous avons continué à chauffer pendant une demi-heure pour la raison donnée plus haut. (Voir page 67).

Le liquide incolore a été amené à 150 cc.

II. — Microdosage de l'azote

Nous avons dosé l'azote dans les solutions de sulfate d'ammoniaque obtenues en utilisant l'appareil de PREGL, perfectionné par PARNAS et WAGNER ([61]).

On opère sur 10 cc. de solution de sulfate d'ammoniaque.

L'ammoniaque est déplacé par quelques cc. de lessive

de soude à 36° B. ou de soude à 30 % (*), entraîné par un courant de vapeur d'eau puis reçu dans 10 cc. d'acide sulfurique N/70.

L'excès d'acide est titré en retour au moyen de soude N/70, après chauffage du vase contenant l'acide pour éliminer toutes les traces de CO_2 qui fausserait les résultats.

Comme indicateur coloré on emploie le rouge de méthyle en solution alcoolique à 0,02 ou 0,03 %.

Un cc. d'acide sulfurique N/70 correspond à 1 cc. d'N N/70, soit 0 gr. 0002 N.

Nous avons fait deux destructions et cinq dosages d'azote pour chacune des deux méthodes employées. Voici les résultats moyens obtenus :

1° Destruction par l'acide sulfurique en présence de mercure : Azote % : 1 gr. 383.

2° Destruction par l'acide sulfurique et le sulfate de cuivre : Azote % : 1 gr. 378.

Gilkinet [27] avait fait observer que la composition centésimale des matières protéiques est peu variable.

On admet en effet que leur teneur en azote varie de 15 à 17.6 % (Lebeau et Courtois) [27], ce qui permet de calculer à peu près la quantité de protides contenues dans un produit quand on connaît sa teneur en azote.

On multiplie le poids d'azote % par un coefficient appelé coefficient de Schutzenberger, correspondant à une teneur moyenne en azote de 16 %, ce coefficient est d'environ 6,25. ce qui nous donne pour la feuille de *B. cordifolia* :

1,383 × 6,25 = 8 gr. 643 % en matières albuminoïdes.

Il est entendu que ce chiffre n'a rien d'absolu, puisque nous n'avons pas opéré sur une matière albuminoïde pure, la drogue pouvant contenir de l'azote sous d'autres formes (nitrates, matières colorantes, etc.).

(*) Quand la destruction de la matière organique a été opérée en présence de sulfate de cuivre, c'est ce dernier qui sert d'indicateur coloré ; on ajoute de la soude jusqu'à teinte bleu-foncé, virant rapidement au noir, ce qui indique la présence d'un excès. Quand la destruction a été effectuée par oxydocatalyse mercurique, on emploie la phénolphtaléine comme indicateur; on ajoute alors NAOH jusqu'à teinte rouge.

CHAPITRE VI

Étude des acides organiques fixes et du tanin

Les acides organiques fixes existant dans la drogue se trouvaient à l'état de sels de plomb dans les précipités obtenus au cours des différentes défécations.

Ces précipités ont été délayés dans de l'eau distillée bouillante et le plomb a été éliminé par un courant lent et prolongé d'hydrogène sulfuré. Les acides organiques se trouvaient alors en liberté dans la solution. Après filtration et lavage du précipité par de l'eau chargée d'hydrogène sulfuré, nous avons chassé l'acide sulfhydrique du filtrat par un courant de gaz carbonique. Ces opérations terminées, nous avons concentré par chauffage au B. M. jusqu'à faible volume la liqueur devenue à peu près inodore. Pour la débarrasser des substances qu'elle contient en sus des acides organiques sous forme de sels sodiques et qui y jouent le rôle d'impuretés (le tanin par exemple), nous l'avons traitée par un excès d'alcool à 95° qui nous a donné un précipité constitué par des substances tanniques.

Le précipité a été séparé par filtration, lavé avec un peu d'alcool, desséché et conservé pour l'étude ultérieure du tanin.

Nous avons caractérisé les acides organiques fixes dans le filtrat divisé en deux parties.

A l'une de ces parties, nous avons appliqué la méthode de Joergensen ([62]) et à l'autre la méthode de Schmidt ([63]) basée sur les différences de solubilité des sels de calcium des acides organiques.

1° Méthode de Schmidt :

La liqueur alcoolique a été évaporée à sec, puie reprise par l'eau et décolorée au charbon ; nous n'avons d'ailleurs pas obtenu une décoloration absolument parfaite. La

solution ambrée obtenue, traitée par l'acétate de calcium et l'eau de chaux, a donné un *précipité* qui a été séparé par filtration (tartrate de calcium ou oxalate de calcium, ou les deux). Nous avons ainsi obtenu un précipité (*a*) et une solution (*b*).

Acides tartrique et oxalique

Le précipité (*a*) : Le tartrate de calcium étant soluble dans l'acide acétique et l'oxalate de calcium y étant insoluble, la séparation de ces deux sels est facile. Notre précipité s'est entièrement dissous dans l'acide acétique.

Pour plus de sûreté, le filtre a été traité par l'acide chlorhydrique (dissolvant de l'oxalate de calcium) ; cet acide n'a pas laissé de résidu ; nous avons donc pu conclure à l'absence d'acide oxalique libre.

Nous avons effectué quelques réactions sur la solution acétique de tartrate de calcium :

La liqueur acétique a précipité par l'ammoniaque et le précipité s'est dissous dans un excès de chlorure d'ammonium.

Avec le nitrate d'argent ammoniacal, nous avons obtenu un miroir d'argent.

La réaction de Mohler (chauffage à l'ébullition de 2 cc. de S04H2 concentré, + quelques gouttes de solution acétique, + deux gouttes de solution aqueuse de résorcine, doit donner une coloration rouge-violet en présence d'acide tartrique) a été positive. La présence de l'acide tartrique a donc bien été confirmée.

Acide citrique

La solution (*b*) : Une partie de celle-ci a été portée à l'ébullition ; nous avons obtenu un trouble (*c*) ; sur une autre partie de la solution étendu d'un peu d'eau et additionnée d'acide chlorhydrique, nous avons fait la réaction de Deniges ([43]) au sulfate mercurique et au permanganate de potasse, qui donne lieu en présence d'acide citrique à la formation d'acide acétone-dicarbonique insoluble en combinaison mercurique. Nous avons obtenu un précipité blanc.

De plus, le traitement à l'ébullition par du chlorure de calcium en excès de quelques cc. de la solution alcalinisée par l'ammoniaque, nous a donné un précipité cristallin de citrate tricalcique.

Nous avons donc conclu à la présence d'acide citrique.

La solution obtenue par filtration de la liqueur trouble (c) nous a servi, après acidification, à la recherche des acides malique et succinique.

Acide succinique

Nous avons traité le liquide acide par l'éther (dissolvant de l'acide succinique) ; celui-ci a été évaporé et sur le résidu extrêmement faible d'ailleurs, nous avons recherché l'acide succinique.

1° Une partie du résidu, chauffée, n'a pas donné de vapeurs d'anhydride succinique à odeur piquante caractéristique.

2° L'autre partie a été traitée par le perchlorure de fer et n'a pas donné de précipité ocreux.

Nous avons conclu à l'absence d'acide succinique.

Acide malique

Dans la liqueur résiduelle obtenue après le traitement à l'éther, et chauffée au B. M. pour chasser celui-ci, nous avons ajouté de l'acétate de plomb ; un précipité s'est formé (malate de plomb) et a été mis en suspension dans l'eau chaude, puis traité par l'hydrogène sulfuré, pour chasser le plomb .Nous avons filtré et sur le filtrat nous avons effectué la recherche de l'acide malique.

La réaction de Deniges ([43]) à l'acétate mercurique (solution en essai, + 1/10e de son volume d'acétate mercurique à 5 %, + 1 cc. d'acide acétique, ébullition et addition de Mn04 K, goutte à goutte, jusqu'à trouble), a été positive, mais comme elle est donnée également par l'acide citrique, nous l'avons vérifiée par la réaction de Deniges ([63]) au sulfate mercurique spécifique celle-ci de l'acide citrique. Elle a été négative.

Nous avons conclu à la présence d'acide malique.

2° Méthode de Joergensen :

Cette méthode est basée sur un mode différent de précipitation, mais comporte les mêmes réactions d'identité des acides.

Elle nous a donné les mêmes résultats que la méthode de Schmidt.

La liqueur primitive a été additionnée d'acide acétique cristallisable, qui a fait passer le tartrate de sodium à l'état de tartrate acide peu soluble. La solution a été filtrée après un repos de 48 heures. Le filtrat concentré sous pression réduite jusqu'à 20 cc. environ, puis acidifié par l'acide chlorhydrique, a été épuisé par l'éther pour rechercher l'acide succinique.

La liqueur acide neutralisée a été additionnée de chlorure de baryum, ce qui a provoqué la formation d'un précipité contenant de l'acide phosphorique, de l'acide sulfurique et de l'acide tannique, alors que le citrate et le malate de baryum restaient dissous. Nous avons filtré, amené le filtrat à 70 cc. environ avec les eaux de lavage du précipité, et complété le tout à 100 cc. avec de l'alcool à 95°.

Dans ces conditions, le titre alcoolique de la solution, qui était d'environ 28°, a provoqué une précipitation du citrate de baryum insoluble à cette concentration alcoolique.

Le liquide restant concentré à petit volume (20 cc. environ) traité par un égal volume d'alcool, nous a donné un précipité de malate de baryum impur.

ETUDE DU TANIN

A. — Recherches qualitatives

On réunissait autrefois sous le nom de « tanin » tous les corps donnant avec la gélatine de la peau des composés imputrescibles et peu perméables (cuir) et avec les sels de fer, des colorations bleues, noires ou vertes. « Actuellement on désigne sous le nom de tanoïdes des principes immédiats des végétaux non azotés, amorphes, de saveur astringente, souvent différents dans leur structure chimi-

que et donnant avec les sels de fer des précipités bleus, noirs ou verts ». (Wattiez-Sternon [27]) :

Les tanoïdes sont extrêmement répandus dans le règne végétal ; cependant, malgré les nombreux travaux qui leur ont été consacrés (Braemer [64], Kunz-Krause [65], etc.), ils ne sont pas encore parfaitement connus. On ignore le processus de leur formation dans les végétaux et si plusieurs hypothèses ont été formulées concernant leur rôle dans la vie des plantes (Gerber-Buignet-Van wisseling-Drable et Nierenstein, Moor, Wiesner, Bastin, Trimble, Lutz) [27], aucune n'a paru assez satisfaisante pour être définitivement adoptée.

D'une manière générale on classe actuellement les tanins d'après leurs produits de dédoublement.

En effet, si leur constitution chimique est encore mal connue, certains points sont acquis à l'heure actuelle ; par exemple :

1° tous présentent dans leurs molécules un certain nombre de fonctions phénoliques ;

2° tous présentent du glucose dans leurs molécules (Fisher) [66].

Perrot et Goris [67] les divisent en tanides et tanosides.

Le tanoïde du chêne, par exemple, se dédouble en acide quercitanique (tanide) et quercitrin (glucoside).

Le tanoïde du café est un tanoïde à tonside, se dédoublant en acide cafétanique (tanoside qui donne lui-même de l'acide caféique et du glucose) d'une part et de la caféine (alcaloïde) d'autre part.

Kunz-Krause [65] a établi une classification également intéressante et se rapprochant d'ailleurs de la précédente :

1° Tanoïdes non glucosidiques :

a) Tanoïdes protocatéchiques.

b) Gallo-tanoïdes.

2° Gluco-tanoïdes :

a) Gluco-tanoïdes galliques.

b) Gluco-tanoïdes protocatéchiques.

c) Phloro-gluco-tanoïdes : 1° protocatéchiques ; 2° galliques.

Menier et Jamet ([27]) ont également donné une classification des tanoïdes, basée toujours sur leurs produits de dédoublement :

1° Tanins pyrogalliques ou hydrolysables, faiblement polymérisés.

2° Tanins pyrocatéchiques ou phlobatanins, fortement polymérisés.

Garreau et Machelaert ([68]) avaient signalé la présence de 20 % de tanin dans les souches du *Saxifraga crasssifolia* (L.).

Ces auteurs avaient extrait le tanin par l'éther aqueux. Ils ne donnent d'ailleurs aucune indication sur la nature de celui-ci.

Pour nous rendre compte de la nature du tanin contenu dans notre drogue, nous avons effectué quelques réactions sur le précipité obtenu précédemment lors de la recherche des acides organiques fixes (page 70).

1° La gélatine donne un précipité ;

2° L'acétate de cuivre donne un précipité vert-grisâtre ;

3° Le cyanure de potassium donne une coloration rose-fugace ;

4° L'hypochlorite de sodium nous a donné une coloration orangée et un précipité brun-clair ;

5° Le réactif de Braemer ([64]) (acéto-tungstate de sodium) nous a donné un précipité jaunâtre ;

6° Le perchlorure de fer nous a donné, avec la solution de tanin très étendue, une coloration bleu-vert ;

7° Une portion de solution tannique étendue, chauffée une demi-heure avec un mélange de 10 cc. de formol à 40 % et 5 cc. d'acide chlorhydrique concentré, ne nous a pas donné de précipité immédiat.

8° Quelques cc. de solution tannique convenablement étendue, additionnés de quelques gouttes d'alun de fer en solution à 1 %, nous ont donné une coloration bleu-violacé ;

9° A quelques cc. de solution de tanin très étendue, nous avons ajouté quelques gouttes d'acide acétique puis de l'eau de brome saturée, jusqu'à ce que la solution dégage des vapeurs de brome. Nous n'avons obtenu un précipité qu'après quelque temps. Nous avons constaté que les seules réactions positives ont été celles des tanins galligues ; nous en avons conclu que les tanins contenus dans la feuille de *B. cordifolia* sont des tanins galliques.

B. — Recherche quantitative

Il existe un assez grand nombre de méthodes de dosage des tanins, les unes basées sur leur pouvoir réducteur, d'autres sur la propriété qu'a la peau chromée de les absorber, d'autres sur la propriété qu'ont les matières tannantes d'agglutiner les globules rouges du sang.

Celle que nous avons employée (Eder) ([69]) consiste à précipiter le tanin par l'acétate de cuivre en solution, à calciner le précipité et à peser l'oxyde de cuivre restant. De la quantité d'oxyde de cuivre on déduit la quantité de tanin.

Le mode opératoire est le suivant :

On épuise complètement (en plusieurs fois) 4 grammes de drogue pulvérisée et desséchée avec 100 cc. d'eau à l'ébullition. On filtre à chaud, puis on précipite le tanin dans le filtrat par addition d'une quantité convenable (50 cc.) de solution d'acétate de cuivre à 4 %. Après quelques heures de repos, on recueille le précipité sur un filtre pon-

déral. Le filtrat doit être vert si on a bien opéré avec un excès d'acétate de cuivre. On dessèche le filtre à l'étuve après de nombreux lavages à l'eau chaude ; on calcine dans un creuset taré, on humecte les cendres avec de l'acide acétique, on recalcine et on pèse.

1 gr. de CuO correspond à 1 gr. 3061 de tanin.

Nous avons effectué trois dosages, et nous avons trouvé en moyenne 0 gr. 3588 de CuO, soit 0 gr. 468 de tanin pour 4 gr. de feuilles sèches et 11 gr. 715 %.

CHAPITRE VII

Etude des acides organiques volatils et recherche d'une essence

Pour la recherche des acides organiques volatils, 100 grammes de feuilles fraîches contusées et mises en suspension dans l'eau, ont été distillés à la vapeur .

Nous avons recueilli 200 cc. de distillat acide incolore et parfaitement limpide, qui présentait une odeur douceâtre, très nette, et plutôt désagréable.

Après avoir neutralisé le liquide par de la soude N/10 et constaté que l'odeur persistait, nous avons traité le distillat par l'éther éthylique, dans une ampoule à décantation. L'éther a été recueilli sur du S04Na2 anhydre et évaporé ; nous avons obtenu un résidu très faible, inférieur au volume d'une goutte, liquide, verdâtre, et présentant la même odeur que le distillat primitif.

Nous avons conclu à la présence d'une essence dans la feuille de *Bergenia cordifolia*, malheureusement en si petite quantité que nous n'avons pu effectuer aucune détermination .La liqueur aqueuse résiduelle a été légèrement chauffée, pour éliminer l'éther, puis acidifiée par l'acide sulfurique, et enfin distillée jusqu'à obtention de 50 cc. de liqueur.

Dans cette solution nous avons recherché les acides organiques volatils par la méthode de G. Bertrand et H. Agulhon ([70]).

Sur le distillat exactement neutralisé par la soude, nous avons effectué les réactions suivantes :

a) Quelques cc. de filtrat ont été additionnés de nitrate d'argent ; nous avons obtenu un précipité blanc noicissant rapidement à chaud, et un dépôt noir d'Ag. métallique.

b) quelques cc. de solution de bichromate de K à 0,5 % dans l'acide nitrique concentré, ajoutés à la solution primitive, ont produit une teinte bleu-mauve, par réduction de l'acide chromique et formation de nitrate de chrome.

c) Avec l'acétate neutre de plomb, nous avons obtenu un précipité blanc cristallin soluble à chaud, reprécipitant par refroidissement.

d) Le chauffage avec un excès sulfurique concentré nous a donné C0, brûlant avec une flamme bleue à l'extrémité du tube.

e) en chauffant quelques cc. de solution avec un mélange à parties égales de S04H2 et d'alcool, nous avons obtenu une odeur de rhum (formiate d'éthyle).

f) A 5 cc. de solution primitive, nous avons ajouté 5 gouttes de solution aqueuse de bleu de méthylène à 1/5.000e, puis porté le tout à l'ébullition. Aussitôt après, nous avons versé 5 gouttes de solution de bisulfite de soude dans le liquide bouillant. Après agitation, le mélange bleu s'est rapidement décoloré, par suite de la formation d'acide hydro-sulfureux, dont le pouvoir décolorant est très grand (Deniges) ([68]).

Toutes ces réactions nous ont permis de conclure à la présence d'acide formique.

Nous avons d'autre part recherché comme suit l'acide acétique :

a) La solution sodique primitive a été additionnée de son volume d'éther, puis goutte à goutte et en agitant, d'une solution de sulfate de cuivre à 2 %. L'éther ne s'est pas coloré en bleu.

Nous en avons conclu à l'absence d'acides supérieurs.

La solution primitive a été additionnée d'éther acétique, puis goutte à goutte d'une solution de perchlorure de fer à 5 % ; l'éther est resté également incolore : donc pas d'acide propionique.

b) Une partie de la solution a été évaporée à sec et le résidu, chauffé avec 0 cc. 5 d'alcool à 95° et 20 gouttes d'acide sulfurique concentré, nous a donné une odeur d'éther acétique (eau-de-vie de cidre).

c) l'autre portion de solution a été évaporée à siccité, le résidu chauffé avec une quantité égale d'anhydride arsénieux pulvérisé, nous a donné une odeur alliacée caractéristique d'oxyde de cacodyle.

Ces différentes réactions nous ont indiqué la présence d'acide acétique.

En résumé, la recherche des acides saturés de la série acétique de formule générale Cn H2n O2, entraînables par la vapeur d'eau, c'est-à-dire jusqu'en C10, nous a révélé la présence, dans la feuille de *Bergenia cordifolia*, d'acide formique et d'acide acétique, et l'absence d'acides supérieurs.

CHAPITRE VIII

Etude des matières minérales

Le rôle des éléments minéraux dans les plantes a été longtemps ignoré, voire même méconnu.

Les travaux de Liebig et de Saussure ([27]) ont contribué à le mettre en lumière.

RECHERCHES QUALITATIVES

Pour caractériser ces éléments nous avons calciné 25 gr. de feuilles sèches de *B. cordifolia* dans une capsule de quartz de grand diamètre. Nous avons opéré dans une capsule en quartz car à haute température il faut toujours craindre les réactions qui peuvent se produire entre les sels alcalins fondus et les silicates des capsules.

Nous avons opéré la calcination à la température la plus basse possible, c'est-à-dire sans dépasser le rouge-sombre. En effet, les sels alcalins (chlorure, phosphate) fondent pendant la calcination, englobent le charbon et le protègent du contact de l'oxygène. D'un autre côté, quelques-uns de ces sels (chlorures, bromures, iodures) deviennent volatiles dès que le rouge sombre est dépassé (Bertrand).

Nous avons maintenu la température du rouge sombre pendant cinq heures. Les cendres ne contenaient plus alors de traces de charbon, et se présentaient sous la forme de fine poussière blanc-crème, parsemée çà et là de quelques points gris très clair.

Nous avons fait l'analyse de ces cendres selon les méthodes habituelles, et nous y avons décelé les éléments suivants :

1° Fer. 2° Manganèse. 3° Magnésium. 4° Calcium. 5° Potassium. 6° Sodium. 7° Chlore. 8° Phosphore. 9° Soufre.

Notons l'absence du cuivre.

RECHERCHES QUANTITATIVES

a) *Dosage des cendres totales.*

Nous avons trouvé 1 gr. 395 de cendres pour 25 gr. de feuilles, soit 5 gr. 580 % de drogue.

b) *Dosage du manganèse.*

Le rôle du manganèse dans les végétaux est extrêmement important : il active les phénomènes enzymatiques. G. Bertrand ([72]) le qualifie « d'excitateur d'oxygène ». C'est d'ailleurs à M. Bertrand ainsi qu'à MM. Jadin et Astruc ([73]) que revient l'honneur d'avoir mis en lumière le rôle important du manganèse chez les végétaux.

Cet élément a été trouvé dans toutes les plantes étudiées par ces auteurs et plus récemment par M. Garnier ([74]).

Nous avons jugé intéressant de doser le manganèse contenu dans le *B. cordifolia.*

Nous avons calciné dans ce but un poids connu de feuilles sèches, jusqu'à obtention de cendres ne contenant plus de charbon.

Le dosage a été effectué selon la technique colorimétrique indiquée par G. Bertrand ([70]). Elle consiste à transformer le manganèse en permanganate, par oxydation au moyen du persulfate de potasse et de l'acide nitrique, en présence du nitrate d'argent.

Dans un tube à essai gradué, on dissout les cendres par 3 cc. d'acide nitrique à 36° B. dilué au quart. On ajoute 5 gouttes de nitrate d'argent en solution au 1/10e, puis 0 gr. 20 de persulfate de potasse en poudre fine. On complète à 10 cc. avec de l'acide nitrique au 1/4 et on chauffe modérément. Il apparaît une teinte variant du rose au violet suivant la concentration en manganèse. On porte à l'ébullition pour décomposer l'excès de persulfate ; quand le dégagement d'oxygène a cessé, on bouche le tube.

Pour le dosage colorimétrique, on prépare une solution-mère à 4 gr. 054 de sulfate de manganèse cristallisé à 4 H2O pour un litre d'eau.

1 cc. de cette liqueur correspond à 1 milligramme de Mn.

On fait de cette solution deux dilutions, l'une au 1/10e et l'autre au 1/100e.

Chaque cc. de la solution au 1/10e correspond à 0 gr. 0001 de Mn.

Chaque cc. de la solution au 1/100e correspond à 0 gr. 00001 de Mn.

On prélève dans des tubes à essai de même diamètre 5 cc., 2 cc., 1 cc., 0 cc. 5, 0 cc. 2, 0 cc. 1 de la solution au 1/10e, qui correspondent à 1/2, 1/5e, 1/10e, 1/20e, 1/50e et 1/100e de milligr. de manganèse.

On opère de même avec la solution au 1/100e et pour celle-ci les étalons correspondent à 1/20e, 1/50e, 1/100e, 1/200e, 1/500e et 1/1000e de milligr. de manganèse.

Ensuite on oxyde le contenu de chaque tube par l'acide nitrique et le persulfate de potassium en présence de nitrate d'argent et on a une échelle colorimétrique à laquelle on compare le tube contenant le manganèse à doser. En multipliant les essais comparatifs, l'approximation peut être poussée jusqu'à une grande sensibilité.

Nous avons décelé par cette pratique 0 gr. 0007 de manganèse pour 100 gr. de feuilles sèches de *B. cordifolia.*

c) *Dosage du fer.*

Pour doser le fer, nous avons employé successivement deux méthodes :

1° Une méthode colorimétrique :

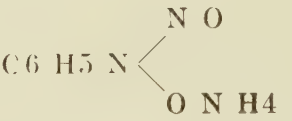
Comme pour le manganèse, nous avons calciné une quantité connue de feuilles, puis nous avons dissous les cendres dans 25 cc. d'acide chlorhydrique, que nous avons amenés à 50 cc. par de l'eau et une solution au 1/10e de sulfo-cyanure de K. La coloration rouge-sang obtenue a été comparée colorimétriquement à une solution étalon de fer à 1/20.000e.

Nous avons décelé par cette méthode 0 gr. 07 de fer pour 100 gr. de feuilles sèches.

2° Une méthode pondérale :

Nous avons calciné une quantité connue de feuilles, puis nous avons traité les cendres par l'acide chlorhydri-

que. Après évaporation de celui-ci à siccité, nous avons repris le résidu par l'acide nitrique et évaporé à nouveau. Tout le fer est ainsi passé à l'état soluble. Ce résidu dissous dans l'eau a été additionné d'une solution à 5 % de cupferron ou sel d'ammonium de la nitroso-phényl-hydroxylamine :



jusqu'à ce qu'en ajoutant une goutte de réactif on ne produise plus de précipité brun rouge, mais un trouble blanc de nitroso-phényl-hydroxylamine.

Le précipité brun ayant pour formule Fe (C6 H5 N2 O2) 3 a été filtré sur filtre pondéral, lavé à l'eau froide, puis desséché à l'étuve et incinéré dans un creuset taré. Pour éviter la formation d'oxydes inférieurs du fer, les cendres ont été mouillées avec une goutte d'acide nitrique et recalcinées.

Nous avons trouvé, par cette méthode, 0 gr. 099 de Fe2 03 pour 100 gr. de feuilles sèches, soit 0 gr. 069 de fer pour cent.

Le résultat obtenu a donc été légèrement plus faible par la méthode pondérale que par la méthode colorimétrique.

RECHERCHE SPÉCIALE DE L'ARSENIC

En 1912, dans une communication à l'Académie des Sciences, MM. Jadin et Astruc ([75]), continuant les travaux d'Armand Gautier et G. Bertrand sur la présence constante de l'arsenic dans le règne animal, signalaient que ce minéral se trouvait également d'une manière constante dans les végétaux.

Après de nombreuses expériences, ils concluaient d'une part qu'il constitue un élément important de l'activité protoplasmique et d'autre part qu'une des sources de l'arsenic normal trouvé dans les organes animaux est dans les végétaux absorbée comme aliments ([76]).

La plus grande partie des essais ayant été faite sur des plantes indigènes, il nous a paru intéressant de rechercher l'arsenic dans le *B. cordifolia*, qui est une plante de régions froides et de plus, placée chez nous hors des conditions normales de sa végétation.

L'essai a porté sur 100 gr. de feuilles desséchées et pulvérisées.

La matière organique a été détruite selon la méthode de Gautier modifiée par Bertrand, tel que l'exposent Ogier et Kohn-Abrest dans leur Traité de Toxicologie ([17]).

La drogue a été arrosée avec une quantité d'acide (une partie S04H2, plus 9 parties N03H), suffisante pour bien l'imbiber. L'opération a été faite dans une grande capsule de porcelaine à chaud et au bain de sable. Nous avons ajouté 20 cc. d'acide sulfurique concentré et maintenu la température jusqu'à apparation de fumées blanches ; à ce moment nous avons additionné la mixture de quelques cc. d'acide nitrique versé goutte à goutte, puis arrêté la chauffe. Le charbon était alors assez homogène pour être trituré après refroidissement avec de l'eau bouillante, ainsi que l'indique Bertrand ([70]).

Les liqueurs aqueuses assez fortement colorées en brun ont été filtrées puis réduites par une petite quantité de bisulfite de soude afin de transformer l'acide arsénique en acide arsénieux, plus rapidement précipitable ([77]).

La solution concentrée au B. M. pour éliminer l'excès d'anhydride sulfureux a été traitée pendant 4 heures par un courant lent d'H2S.

Le précipité obtenu abandonné 24 heures au repos après bouchage du flacon, puis recueilli sur un filtre sans plis a été dissous dans une petite quantité d'ammoniaque tiède et dilué.

L'ammoniaque a été évaporé et le résidu repris à chaud par quelques cc. de mélange sulfo-nitrique. Le sulfure d'arsenic a été transformé en acide arsénique et l'excès de soufre est passé peu à peu à l'état d'acide sulfurique.

Quand la liqueur a commencé à donner des fumées blanches nous l'avons étendue d'eau, puis introduite dans

l'appareil de Marsh, modifié par M. Jadin (78), de telle sorte que toute trace d'oxygène soit éliminée.

MM. Jadin et Astruc signalent qu'à l'aide de cet appareil ils ont obtenu des anneaux avec 1/1.000e de milligr. d'As.

Nous avons obtenu un anneau léger quoique net d'arsenic, qui, chauffé, s'est volatilisé, puis déposé en blanc sur les parois refroidies du tube. Nous étions donc bien en présence d'arsenic qui s'était oxydé en donnant de l'anhydride arsénieux volatil.

TROISIÈME PARTIE

Le Rhizome de Bergenia cordifolia (Haw) A. Br.

ETUDE BOTANIQUE

1° Morphologie externe.

Le rhizome de *B. cordifolia* (Haw) A. Br. est lourd, épais, irrégulièrement ramifié ; il peut avoir jusqu'à 4 cm. de diamètre. Les bases noircies des pétioles l'entourent, et protègent de minuscules bourgeons formant des courbes au centre desquelles se trouvent de petites dépressions, occupées chacune par un bourgeon caulinaire. Les petits bourgeons donnent des racines adventives. Ces racines montent très haut sur le rhizome ; on en trouve de blanches et charnues, jusque sous les bases de pétioles, des feuilles en pleine végétation. Elles percent fréquemment ces enveloppes, pour se frayer un chemin dans le sol.

La cassure du rhizome est farineuse, et devient rapidement rosée au contact de l'air, après avoir jauni légèrement.

La croissance du rhizome se fait au fur et à mesure du développement du bourgeon terminal.

2° Structure anatomique.

L'écorce de la tige souterraine est limitée extérieurement par une couche subéreuse irrégulière Les faisceaux libé-roligneux forment un cercle, ils sont séparés par de larges rayons médullaires. Le liber ne présente aucune particularité, le bois est formé de vaisseaux noyés dans un parenchyme ligneux. La moelle, assez importante, est formée de grandes cellules à parois minces. Il y a de nombreuses et très grosses mâches d'oxalate de chaux, disséminées surtout dans le parenchyme cortical et dans la moëlle. (Voir schéma, figure 3).

3° Examen microchimique des coupes.

Amidon : L'eau iodée donne une teinte bleue, qui diffuse dans toute la coupe, et qui indique une grande quantité d'amidon. On distingue très bien, en effet, les grains d'amidon, petits, ovales, déformés par la pression, qui remplissent presque toutes les cellules.

Tanin : Le perchlorure de fer colore toute la coupe en bleu-noir, comme pour la feuille.

Le réactif de Braemer donne un précipité, mais pas de coloration verte, dans les cellules de l'épiderme, dans celles de trois ou quatre assises sous-épidermiques, dans celles des rayons médulaires et dans celles de la moëlle.

ETUDE CHIMIQUE

CHAPITRE PREMIER

Essais préliminaires

Ils ont été effectués sur le rhizome desséché, débarrassé des racines adventives et pulvérisé. Toutefois, il est évident que le calcul de la teneur en eau a été effectué sur le rhizome frais.

A. — ESSAIS QUALITATIFS

Nous avons fait macérer 20 gr. de drogue pulvérisée dans 100 cc. d'eau. Le macéré obtenu était très astringent, mais beaucoup plus amer que celui de la feuille.

Il présentait d'autre part les caractères suivants :

1° franchement acide au tournesol ;

2° mousse par agitation ;

3° ne donne pas de précipité à l'ébullition ;

4° ne donne pas de précipité à l'ébullition en milieu acétique ;

5° ne donne pas de précipité avec l'acide picrique ;

6° donne un léger trouble avec le réactif de Bertrand à l'acide silico-tungstique ;

7° donne un précipité noir avec le perchlorure de fer ;

8° réduit fortement la Liqueur de Fehling à chaud avec commencement de réduction à froid ;

9° donne un précipité brun avec la soude et une coloration violet-rouge en surface ;

10° donne la méme réaction avec l'ammoniaque ;

11° donnne un précipité jaunâtre avec le réactif de Courtonne ;

12° donne un précipité avec l'extrait de Saturne ajouté au filtrat précédent ;

13° donne un précipité brun clair avec le réactif de Bouchardat.

Ces essais nous ont indiqué la présence d'acides, de sels d'acides, de substances protéiques et de matières réductrices.

Recherche des diastases :

Elle nous a donné les résultats suivants :

Absence d'oxydase et de peroxydase ;

Présence d'une diastase analogue à l'invertine et d'une autre analogue à l'émulsine.

B. — ESSAIS QUANTITATIFS

Ils ont été effectués exactement comme ceux de la feuille.

a) *Dosage du résidu extractif de la solution aqueuse.*

Résultat : 6 gr. 35 %.

b) *Dosage du résidu alcoolique après épuisement aqueux.*

Résultat : 9,45 %.

c) *Teneur en eau du rhizome frais.*

Résultat : 56,80 %.

CHAPITRE II

Recherche des Alcaloïdes

Cette recherche a été effectuée :

1° Par la méthode de Stas-Otto ;

2° Par la méthode à l'acide silico-tungstique.

Les deux méthodes nous ont donné des résultats négatifs. Les résidus acides chloroformiques et éthérés étaient d'un brun légèrement orangé, et contenaient des cristaux d'hydroquinone.

CHAPITRE III

Etude des Glucides

I. — L'HÉTÉROSIDE

Dans son travail sur le *B. cordifolia,* Mlle Braeke ([25]) signale qu'elle a effectué un essai biochimique sur le rhizome comme sur la feuille.

Elle ajoute que cet organe contient entre autres le même principe hétérosidique que la feuille, mais en bien moins grande quantité.

Nous avons d'ailleurs pu y caractériser très facilement l'*arbutoside* par un procédé indirect : la méthode de micro-*sublimation.*

Quelques grammes de rhizome pulvérisé de *B. cordifolia* humectés avec un peu d'acide chlorhydrique étendu ont été chauffés très légèrement dans un grand verre de montre recouvert d'une lame de verre froide, que nous avons eu soin de changer toutes les minutes. Nous avons ainsi obtenu un important sublimat cristallisé constitué par de l'hydroquinone.

D'autre part, avant de doser l'hétéroside, nous nous sommes efforcée de le localiser microchimiquement dans le rhizome.

Localisation microchimique de l'hétéroside dans le rhizome de B. cordifolia

Le perchlorure de fer n'a pu être employé pour la même raison qui nous l'a fait éliminer pour la feuille (tanin).

La méthode de Chemineau à l'acide nitrique (voir page 38), nous a donné de bons résultats.

L'hétéroside semble être localisé au voisinage de l'épiderme, dans trois ou quatre assises de cellules, puis irrégulièrement dans le parenchyme cortical, dans l'endoderme, dans la partie externe du liber, dans les rayons médullaires et dans la moëlle.

Comme dans la feuille, la coloration orangée est apparue dans les cellules qui ont donné les réactions des tanins (réactif de Braemer, vanilline chlorhydrique).

L'hétéroside semble donc bien localisé dans les mêmes cellules que le tanin.

Nous avons dosé l'*arbutoside* dans le rhizome de *B. cordifolia* par la méthode de Zechner ([35]), déjà exposée page 45.

Dosage de l'arbutoside dans le rhizome de B. cordifolia

Nous avons opéré pour le rhizome comme pour la feuille, mais sur trois prises d'essai correspondant chacune à 5 gr. de drogue, après épuisement de la solution à l'éther. Il nous a fallu 8 cc. 5 d'iode décinormal pour oxyder l'hydroquinol formé au cours du dédoublement, en quinone, d'où la quantité d'hétéroside contenu dans le rhizome de *B. cordifolia* est égale à :

$$\frac{(8{,}5 \times 0{,}0127) \times 272}{254} = 2 \text{ gr. } 310\ \%.$$

Notons que l'évaporation de l'éther ayant servi à épuiser la solution nous a laissé 0 gr. 0028 d'hydroquinol (titré également par une solution d'iode N/10), pour une prise d'essai de 5 gr., soit 0 gr. 0028 × 20 = 0 gr. 056% d'hydroquinol formé au cours de la conservation dans le rhizome de *B. cordifolia.*

Ceci supposerait que :

$\frac{0{,}055 \times 272}{110}$ = 0 gr. 138 % d'*arbutoside* aurait été dédoublé pendant la dessiccation de la drogue.

N.B. — A. Meunier ([30]) avait réussi à déceler la présence d'*arbutoside* dans les fleurs et les graines (téguments et cotylédons) de certains *Lathyrus,* grâce à la méthode indirecte de microsublimation (voir page 92). Nous avons employé la même méthode, pour rechercher cet hétéroside dans les fleurs et graines de *B. cordifolia.*

Nous avons opéré tout d'abord sur les sépales et ensuite sur les pétales ; le résultat a été positif dans les deux cas.

Enfin, nous avons opéré sur les graines, malheureusement, nous n'avons pu les décortiquer, car elles sont très petites ; le résultat a été également positif.

II. — LES SUCRES

Nous avons employé pour la recherche et l'étude de ces principes, un extrait stabilisé obtenu par l'action de l'alcool bouillant sur 500 gr. de rhizome sec préparé pour le dosage de l'*arbutoside*. Après évaporation de l'alcool sous pression réduite, le résidu a été repris par l'eau, de telle sorte que 1 cc. de solution corresponde à 0 gr. 50 de drogue.

Cette solution a été épuisée à l'éther comme celle de la feuille et pour la même raison. Voir page 55).

A. — Analyse qualitative

Elle a été effectuée exactement comme celle de la feuille.

Les recherches qualitatives générales nous ont donné les résultats suivants :

Présence de sucres réducteurs : aldoses et cétoses.

Les recherches qualitatives particulières nous ont révélé la présence de : glucose, lévulose et saccharose.

B. — Analyse quantitative

Sucres réducteurs exprimés en glucose : 4 gr. 242 % (*).

Sucres hydrolysables exprimés en saccharose : 2 gr. 232 %.

III. — LA GOMME

Nous avons appliqué au rhizome la méthode de Bellier, que nous avions déjà employée pour la feuille voir page 56.

Nous avons décelé par cette méthode 1 gr. 15 % de gomme dans le rhizome de *B. cordifolia*.

Cette gomme brune croque sous la dent et possède une saveur uniquement mucilagineuse.

(*) Les résultats ont été majorés de 10 % pour compenser les pertes en sucre provoquées par la défécation.

IV. — L'AMIDON

L'examen des coupes nous ayant montré l'existence d'amidon en quantité notable, nous avons été conduite à doser les matières amylacées.

Mode opératoire :

1 gr. de poudre de rhizome, exactement pesé est placé dans un ballon avec 100 cc. d'eau distillée et 3 cc. d'acide chlorhydrique concentré, on adapte un réfrigérant à reflux et on maintient pendant 3 heures à une légère ébullition.

On laisse refroidir, on filtre et on rince le ballon avec de l'eau distillée. La solution est déféquée complètement par le sous-acétate de plomb afin d'éliminer le Bergénin (*) dont le pouvoir réducteur fausserait les résultats.

L'excès de plomb est éliminé par le phosphate disodique, on filtre et le volume de la solution, après neutralisation et épuisement à l'éther (**) est amené à 300 cc.

On procède alors au dosage des substances réductrices suivant la méthode de BERTRAND en opérant sur 20 cc. de cette solution.

Les résultats que nous avons obtenus sont consignés dans le tableau suivant :

Mn 04 K	Sucre correspondant	Pour 100 gr. de rhizome
1° dosage : trouvé : 3 cc,8	0 gr,019	soit : 28 gr,50
2° dosage : trouvé : 3 cc,75	0 gr,0187	soit : 28 gr,05
3° dosage : trouvé : 3 cc,8	0 gr,019	soit : 28 gr,50

Moyenne : 28 gr, 35

(*) Voir page 97.

(**) L'épuisement à l'éther a été effectué pour éliminer l'hydroquinol formé au cours de l'hydrolyse acide par dédoublement du glucoside et dont le pouvoir réducteur assez considérable aurait faussé le résultat final.

Si nous retranchons de ce chiffre le poids des sucres totaux du rhizome après hydrolyse complète, exprimés en sucre interverti, nous obtenons la quantité de glucose formée par l'hydrolyse de l'amidon, soit :

$$28 \text{ gr. } 35 - 8 \text{ gr. } = 20 \text{ gr. } 35.$$

En multipliant ce chiffre par le coefficient 0,9, nous en déduisons approximativement la teneur en amidon, soit :

$$20 \text{ gr. } 35 \times 0{,}9 = 18 \text{ gr. } 30.$$

CHAPITRE IV

Le Bergénin

Jusqu'en 1930, date à laquelle Mlle Braeke publia un mémoire sur la feuille de *Bergenia cordifolia* (Haw) A. Br., cette plante n'avait jamais été étudiée ; cependant le genre *Bergenia* avait déjà paru intéressant à plusieurs auteurs qui avaient effectué des recherches sur des Saxifragacées y appartenant.

Ces travaux avaient d'ailleurs toujours concerné les rhizomes et jamais les feuilles.

Dès 1880, MM. Garreau et Machelaert ([68]) avaient étudié les rhizomes de*Saxifraga sibirica* et *Saxifraga crassifolia.*

D'après des descriptions données par ces auteurs, il semble que le *Saxifraga crassifolia* étudié par eux soit le *Bergenia crassifolia* (L.) Engl., quant au *Saxifraga sibirica,* il ne correspond en rien à la plante décrite sous le même nom par Engler et Irmscher dans « Das Pflanzenreich ».

Garreau et Machelaert signalaient avoir isolé des souches de *Saxifraga sibirica,* un produit immédiat nouveau, le « Bergénin », qu'ils avaient préparé en traitant par l'alcool à 90° bouillant les souches déjà épuisées par l'éther aqueux pour éliminer le tanin. L'évaporation de l'alcool leur avait abandonné le Bergenin cristallisé ; ce produit d'une amertume franche et persistante, cristallisant en tétraèdres blancs et transparents, à partir de ses solutions alcooliques et en prismes très réfringents à partir de ses solutions aqueuses est dépourvu de pouvoir rotatoire.

Chauffé à 140°, il perd son équivalent d'eau en donnant un liquide légèrement ambré qui après refroidissement absorbe de l'eau atmosphérique pour redonner des tétraèdres.

Le Bergénin peu soluble dans l'eau, 1/830 à 15°, plus soluble dans l'alcool, 1/167 à la même température, devient beaucoup plus soluble dans ces deux liquides à l'ébullition.

En solution aqueuse, il est très légèrement acide au tournesol et réduit la Liqueur de Fehling, mais moins rapidement que le glucose.

Par hydrolyse acide à l'ébullition, il ne donne pas de glucose. Le ferment de la bière, la « synaptase » (émulsine), la diatase, etc., sont sans action sur ce produit.

Les cations alcalins et alcalino-terreux donnent avec le Bergénin des sels solubles.

En solution aqueuse, les acétates neutres et tribasiques de plomb donnent avec le Bergénin un sel défini insoluble dans l'eau.

A partir de ce sel plombique et du Bergénin lui-même, Garreau et Machelaert ont effectué une analyse élémentaire qui les amenés à conclure que la formule brute du produit cristallisé était : C6 H4 04.

Ces auteurs avaient fondé des grands espoirs à tort, semble-t-il, sur le Bergénin et lui avaient attribué une action reconstituante et antipyrétique.

Dix ans plus tard, en 1891, E. Morelle ([78]) entreprit des recherches sur la plante déjà étudiée par Garreau et Machelaert; il l'appela *Bergenia sibirica*. Mlle Braeke fait observer que cette espèce de *Bergenia* n'est signalée ni dans l'index de Kew, ni dans les Pflanzenfamilien.

Comme Garreau et Machelaert, Morelle s'intéressa au Bergénin. Il le prépara en épuisant le rhizome par l'alcool à 80° et signala qu'il cristallise en prismes droits du système orthorhombique, ayant un angle de 91°15', modifié sur la moitié des arêtes basiques par des faces inclinées de 126°22' sur celles du prisme.

D'après Morelle, le Bergénin est actif à la lumière polarisée, il est lévogyre et présente un pouvoir rotatoire, moléculaire, correspondant à :

$$(\alpha)\ d = -51°,36$$

Il fond à 130° en perdant son eau de cristallisation. Par élévation de température, il devient solide et se décompose à 230° après une deuxième fusion. L'analyse élémentaire donne les résultats suivants :

C = 47,45 H = 5,93.

Garreau et Machelaert avaient trouvé :

C = 47,28 H = 5,44,

donc les chiffres concordent à peu près.

Selon Morelle, la formule du Bergénin serait un multiple de C8 H6 O6. Il ne serait pas attaqué par les acides minéraux et ne se combinerait pas avec eux. Il se combinerait avec l'acide acétique et l'acide valérianique, donnerait des dérivés triacétylés et tribenzoylés avec le chlorure d'acétyle et le chlorure de benzoyle. Morelle aurait même obtenu un dérivé pentacétylé. Le Bergenin donnant naissance à des esters avec les acides organiques ou leurs chlorures, cet auteur le considère comme un alcool pentatomique, voisin de la pinite et de la quercite, et en conséquence propose le nom de « Bergénite ».

En 1921, Powarnin ([80]) reprit à nouveau l'étude du Bergénin, qu'il prépara à partir du rhizome de *Bergenia crassifolia* (L.) Engl. Cet auteur employa également l'alcool comme liquide extractif, mais à froid. Après concentration à consistance de sirop épais et précipitation d'une substance sucrée (saccharose) par l'acétone, le Bergénin cristallise dans le filtrat.

Powarnin signale que son point de fusion est de 135 à 137° avec perte d'eau ; par refroidissement il se solidifie et fond à nouveau à 234°.

La formule du Bergénin est : C 14 H 16 O 10) n.

Il réduit le nitrate d'argent ammoniacal et donne une coloration violette avec le perchlorure de fer. Powarnin suppose que ce corps est un glucoside.

En 1927, Ssadikow et Guthner ([81]) préparèrent le Bergénin à partir de souches desséchées et moulues de *B. crassifolia* (L.) Engl. par macération dans l'eau entre 0 et 5°, afin que le tanin reste insoluble.

Le macéré aqueux épuisé à l'éther laisse cristalliser le Bergénin.

Sa formule est : C7 H10 O5) 2 et il donne bien une coloration violette avec le perchlorure de fer.

L'acétylation donne un produit décaacétylé.

Les acides minéraux dilués (H Cl et S04H2 à 5 %) à l'ébullition ne le décomposent pas.

Ssadikow et Guthner ont conclu à l'absence de groupements méthoxyles dans la formule du Bergénin, quoique le dosage de ceux-ci par la méthode de Zeisel-Fanto ait donné : 9,30 %.

Selon Ssadikow et Guthner, le Bergénin aurait un pouvoir rotatoire dextrogyre de valeur absolue conforme aux données des auteurs déjà cités.

En 1929, Tschitschibabin et ses collaborateurs Kirssanow, Korolew et Woroschzow jun. ([58]) ont enfin établi la formule structurale du Bergénin.

Ils ont extrait ce produit de six kilos de souches de *B. crassifolia* (L.) Engl. par percolation dans un appareil spécial en employant l'acétone comme liquide extractif, à raison d'un écoulement d'un litre et demi à l'heure après une nuit de macération.

Les trois premiers litres étaient surtout chargés en tanin, les deux litres suivants laissèrent cristalliser 50 gr. environ de Bergénin brut. Après passage de 45 litres d'acétone environ, la poudre était épuisée, et 310 gr. de Bergénin brut avaient cristallisé.

Les caractères de ce produit sont les suivants: purifié par recristallisations successives à partir de l'eau ou de l'éther aqueux, le Bergénin se présente en prismes renfermant une molécule d'eau de cristallisation qui s'évapore lentement à 100°, plus rapidement dans le vide et plus rapidement encore vers 130°.

Pour la formule C14 H16 O9. H2O, l'eau de cristallisation correspond à 5,20 %.

L'amertume est moins rapidement sensible pour le produit cristallisé que pour le produit anhydre, à cause de la faible solubilité du premier.

Le Bergénin a un pouvoir rotatoire lévogyre. Déterminé à partir de solutions sursaturées, il est dans l'eau :

$$(\alpha)\ d = \quad 47°37.$$

et dans l'alcool :

$$(\alpha)\ d = -\ 37°25.$$

En solution aqueuse avec le perchlorure de fer, le Bergénin donne une coloration violet pâle et violet foncé en solution sursaturée.

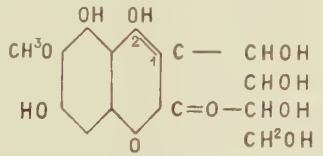
Le nitrate d'argent est réduit à froid et la Liqueur de Fehling à chaud.

Les acides libèrent le Bergénin de ses solutions alcalines alcooliques.

Tschitschibabin et ses collaborateurs ont préparé à partir du Bergénin une série de composés qui ont servi à élucider sa formule. Pour le Bergénin hydraté, ils déduisaient de leurs analyses la formule C14 H18 O10. Les chiffres de Ssadikow et Guthner concordent d'ailleurs avec ce résultat.

Pour le Bergénin anhydre, la formule est: C14 H16 O9.

Le Bergénin est la 1-tétraoxy-1, 2, 3, 4, butyl, 4, 6, dioxy, 5, méthoxyisocoumarine.



La détermination des hydroxyles montre qu'il y en a six. (Zéréwitinoff).

Le pentacétyl-Bergénin a été préparé, caractérisé et il est prouvé qu'il contient encore un groupement OH.

Deux hydroxyles sur six ont un caractère phénolique. Le phénolate disodique et le phénolate monosodique correspondants ont été préparés ainsi que le dimétylbergénin.

La détermination des groupements méthoxyles d'après Zeisel démontre l'existence d'un radical méthoxyle.

Le Bergénin ne renferme ni fonction acide libre (COOH) ni fonction aldéhyde (COH) ni fonction cétone (CO).

Les sels potassiques obtenus sont les phénolates.

Le Bergénin renferme un groupement lactonique particulièrement facile à titrer dans le diméthylbergénin.

L'oxydation de ce dernier par le permanganate de potasse alcalin a donné naissance à trois substances bien étudiées :

a) la 4, 5, 6 triméthoxyisocoumarine ;

b) l'acide 4, 5, 6 triméthoxyisocoumarine - 1 carboxylique ;

c) l'acide 4, 5, 6 trimétoxyphtalique.

L'obtention de ces produits permet d'établir l'existence dans le Bergénin du noyau de l'isocoumarine avec une chaîne latérale en position α dans la moitié pyronique de l'isocoumarine et la présence de deux radicaux hydroxyles (OH) et d'un radical méthoxyle (OCH3) dans le noyau benzénique.

La position du radical méthoxyle fut établie par l'examen des produits de la fusion alcaline du Bergénin. On obtint l'acide 4 méthoxy 3, 5, dioxybenzoïque, par lequel la position du méthoxyle en 4 fut démontrée.

La structure du noyau étant ainsi complètement élucidée, celle de la chaîne latérale ne pouvait être que celle d'un tétrol à chaîne normale : CH2 OH — (CHOH) 3.

C'est la première fois que cette chaîne fut découverte dans la chaîne latérale d'une combinaison aromatique naturelle, ce qui montre la corrélation entre les composés aromatiques naturels et les alcools polyvalents.

D'après la nouvelle nomenclature biochimique, le Bergenin étant à la fois un phénol et un alcool polyatomique, devrait s'appeler « Bergénol ».

Garreau et Machelaert [68] avaient présumé l'existence du Bergénin dans le rhizome de *Saxifraga cordifolia;* comme ils faisaient sans doute allusion sous le nom de *S. cordifolia* au *B. cordifolia* (Haw) A. Br., il nous a paru intéressant d'effectuer la recherche du Bergénin dans les souches de cette espèce.

Essai d'extraction du Bergénin dans les souches de B. cordifolia

Nous sommes partie de 100 gr. de rhizome pulvérisé de *B. cordifolia* que nous avons percolés dans une allonge ordinaire avec de l'acétone, après macération de 12 heures comme l'indique Tschitschibabin.

Nous avons réglé l'écoulement du liquide extractif de manière qu'il s'effectue très lentement (500 cc. dans une heure.

Nous avons employé en tout 1.500 cc. d'acétone, quantité plus que suffisante pour épuiser la drogue à fond ; Tschitschibabin signale en effet avoir épuisé complètement 6 kgs de rhizome avec 45 litres d'acétone, ce qui ne correspond qu'à 700 cc. de solvant pour 100 gr. de plante.

Après concentration de l'acétone sous pression réduite et abandon à la glacière pendant quatre jours, nous avons obtenu des cristaux colorés en brun et par conséquent très impurs.

Il a fallu plusieurs recristallisations dans l'eau et dans l'éther aqueux pour avoir finalement 4 gr. 784 d'un produit relativement pur.

Essai d'identification des cristaux

Les travaux effectués par Tschitschibabin et ses collaborateurs pour identifier le Bergénin et pour établir sa formule ne sont pas à notre portée et ne rentrent pas du reste dans le cadre de ce travail.

Nous nous sommes contentée par conséquent pour vérifier si le produit cristallisé obtenu par nous était bien du Bergénin d'effectuer les quelques réactions chimiques données plus haut et de faire quelques mesures telles que celles du pouvoir rotatoire et du point de fusion.

A l'œil nu, les cristaux obtenus par épuisement du rhizome de *B. cordifolia* à l'acétone se présentent en petites masses blanches agglomérées, qui croquent sous la dent un peu comme du sable et sont extrêmement amères, l'amertume persiste d'ailleurs assez longtemps.

Au microscope, ils se présentent en prismes incolores et très réfringents.

Ces cristaux sont extrêmement peu solubles dans l'alcool et l'eau.

A chaud ils sont beaucoup plus solubles, surtout à l'ébullition, mais pendant le refroidissement les solutions se troublent et les prismes se reforment très rapidement.

Ces cristaux présentent les caractères suivants :

En solution saturée ils donnent une coloration violette avec le perchlorure de fer.

Dans les solutions alcalines, même faibles, ils se dissolvent très facilement et les liquides foncent peu à peu jusqu'à être rouge-violet.

Le nitrate d'argent est réduit dès la température ordinaire.

La Liqueur de Fehling est réduite à chaud.

Garreau et Machelaert ayant signalé que la réduction de la Liqueur de Fehling par le Bergénin se faisait « moins rapidement que par le glucose ». Nous avons jugé intéressant de comparer le pouvoir réducteur du produit cristallisé obtenu par nous avec celui du glucose.

Nous avons opéré par l'évaluation du cuivre réduit par 1 gr. de cristaux en employant la méthode de Bertrand pour le dosage des sucres réducteurs. Nous avons ainsi constaté que 1 gr. de cristaux réduit la même quantité de cuivre que 0 gr. 550 de glucose.

Dissous dans l'eau alcaline et traités par un acide minéral, ces cristaux redéposent après décoloration de la solution. Les acides minéraux les libèrent donc de leurs solution alcalines.

Dissous dans l'eau et chauffés pendant trois heures au réfrigérant à reflux avec de l'acide sulfurique ou de l'acide chlorhydrique à 5 %, ils recristallisent après refroidissement.

Nous avons également effectué à partir de solutions aqueuses et alcooliques sursaturées la mesure du pouvoir rotatoire. Nous avons obtenu :

Dans l'eau : α (d) = — 50°

Dans l'alcool : α (d) = — 40°10'.

Nous avons déterminé le point de fusion de ces cristaux au bain de mercure ; trois déterminations successives nous ont donné les résultats suivants :

1° 141°4,
2° 139°8,
3° 140°5,

soit en moyenne : 140°6.

De tous ces résultats nous avons pensé pouvoir conclure que les cristaux isolés par nous du rhizome de *B. cordifolia* (Haw) A Br. sont constitués par du Bergénin.

Signalons encore que Garreau et Machelaert ayant indiqué que la solubilité du Bergénin dans l'eau est de 1/830 à 15°, et dans l'alcool de 1/167 à la même température, nous avons jugé intéressant de déterminer la solubilité du produit que nous avions obtenu dans l'eau et dans l'alcool.

Nous avons opéré de la façon suivante :

Deux solutions saturées de cristaux ont été préparées à chaud, l'une dans l'alcool, l'autre dans l'eau.

Après refroidissement et repos, nous avons déposé dans des verres de montre tarés des volumes exactement mesurés des deux solutions, et nous avons abandonné à l'évaporation. Nous avons achevé la dessiccation dans le vide. L'augmentation de poids des verres de montre rapportée au volume de solution évaporée nous a permis de calculer la quantité de cristaux solubles dans 100 cc. de solvant. Nous avons trouvé :

Pour l'eau : 0,125 % et pour l'alcool : 0,605 % à la température du laboratoire, (21°).

Ces résultats concordent à peu près avec ceux donnés par Garreau et Machelaert pour la solubilité dans l'eau et l'alcool du Bergénin. En effet, 1/830 pour l'eau correspond à 0,1204 % et 1/167 pour l'alcool à 0,5982 %.

Nous avons d'autre part obtenu des cristaux prismatiques donnant les réactions du Bergénin au cours d'un essai biochimique effectué sur le rhizome frais de *B. cordifolia*.

Après avoir préparé un extrait stabilisé, nous l'avons repris par l'eau de telle sorte qu'1 cc. de solution aqueuse

corresponde à un gramme de tige rhizomateuse fraîche, et nous avons abandonné au repos à la glacière.

Après quatre jours, l'extrait avait laissé déposer une couche de cristaux blancs.

Ceux-ci étaient beaucoup plus purs et plus blancs sans recristallisation que ceux obtenus par nous lors de l'épuisement des souches à l'acétone, après plusieurs recristallisations.

Nous les avons pesés après les avoir lavés et desséchés, ce qui nous a donné :

2 gr. 010 % de cristaux pour 100 gr. de rhizome frais.

D'autre part, ajoutons encore que des fragments de rhizome fendus dans le sens de la longueur et conservés dans l'alcool à 30° pour effectuer des coupes étaient après sept mois hérissés d'une grande quantité de cristaux prismatiques incolores, sur toutes leurs faces, et particulièrement sur les sections transversales et longitudinales.

Nous avons recueilli ces cristaux en râclant les tronçons de rhizome à l'aide d'un scalpel. Malgré la petite quantité obtenue, nous avons pu effectuer quelques-unes des réactions du Bergénin, elles ont été positives.

CHAPITRE V

Etude des Lipides

Nous avons répété sur le rhizome desséché de *B. cordifolia* les recherches effectuées sur la feuille en employant les mêmes techniques. Aussi ne rapellerons-nous pas ces dernières et nous bornerons-nous à donner les résultats obtenus :

1° Epuisement de la drogue par l'alcool bouillant dans l'appareil de Kumagawa-Suto :

Cet épuisement a été maintenu 12 heures, temps tout juste suffisant pour que l'alcool siphonnant passe incolore.

Nous avons obtenu un poids d'extrait brun-rouge très épais égal à 27 gr. 955 %.

2° Saponification :

L'addition de potasse alcoolique à l'extrait précédent a déterminé l'apparition d'une teinte violet-pourpre.

Le liquide obtenu après deux heures et demie de saponification n'était pas parfaitement limpide, mais le trouble ne nous a pas gênée dans les opérations ultérieures.

3° Extraction de l'insaponifiable :

Elle nous a donné 0 gr. 1525 % d'insaponifiable, d'odeur plutôt désagréable, se présentant à l'œil nu en masse translucide brune et au microscope en cristaux étoilés et en plaquettes polygonales, les unes incolores, les autres colorées en brun.

4° Recherche du phytostérol dans l'insaponifiable :

Les réactions de Hager-Salkowski et de Liebermann effectuées sur une petite quantité d'insaponifiable dissous dans le chloroforme, ont été positives toutes les deux.

5° Dosage du phytostérol :

Nous avons employé la méthode pondérale de Windaus. Nous avons obtenu les résultats suivants :

0 gr. 0344 de phytostérol pour 100 gr. de rhizome, et :

22 gr. 50 de phytostérol pour 100 gr. d'insaponifiable.

6° Extraction des acides gras :

Elle nous a donné : 0 gr. 210 % d'acides gras sur lesquels nous n'avons pu faire aucune détermination, étant donnée leur faible quantité.

Etude des Protides

CHAPITRE VI

Nous avons répété sur le rhizome de *B. cordifolia* les recherches effectuées sur la feuille, au moyen des mêmes techniques.

En conséquence, nous nous bornerons à indiquer les résultats obtenus :

1° Recherches qualitatives :

Nous avons opéré sur quatre solutions obtenues par macération de la drogue desséchée, dans l'eau salée, dans l'eau alcaline et dans l'alcool à 70°.

Solution I : extrait aqueux (albumines).
Liquide limpide d'un beau brun orangé ;

Solution II : extrait salin (globulines).
Liquide limpide jaune pâle ;

Solution III : extrait alcalin (glutélines).
Liquide rouge violet foncé et épais.

Solution IV : extrait alcoolique (gliadines).
Liquide brun rosé.

Les réactions effectuées sur ces extraits dans des conditions semblables nous ont conduit à des résultats identiques à ceux obtenus avec la feuille. (Voir page 66).

Nous pouvons ainsi conclure à la présence dans le rhizome d'albumines, de globulines et de glutélines, ainsi qu'à l'absence de corps appartenant au groupe des gliadines.

2° Recherches quantitatives :

Comme pour la feuille, nous avons employé deux techniques de destruction de la matière organique :

a) *Destruction par l'acide sulfurique en présence du mercure ;*

b) *Destruction par l'acide sulfurique en présence de sulfate de cuivre.*

Comme pour la feuille, l'oxydocatalyse mercurique nous a donné les meilleurs résultats.

Nous avons effectué deux destructions et cinq dosages d'azote pour chacune des deux méthodes ci-dessus.

La destruction par l'acide sulfurique en présence de sulfate de cuivre nous a donné en moyenne le résultat suivant :

1 gr. 258 d'azote %.

Nous avons pris comme résultat définitif la moyenne des dix dosages d'azote effectués, après les deux destructions par l'acide sulfurique en présence de mercure, soit :

1 gr. 278 d'azote %.

Ce qui nous donne 1,278 × 6,25 = 7,987 environ en matières protéiques, pour 100 grammes de rhizome.

CHAPITRE VII

Etude des Acides organiques fixes et du Tanin

Les acides organiques du rhizome ont été recherchés comme ceux de la feuille, sur les précipités plombiques obtenus au cours des défécations, dans lesquels ils se trouvaient sous forme de sels de Pb.

Nous avons employé les mêmes techniques que pour la feuille et nous avons pu caractériser les acides organiques fixes suivants :

Acide tartrique,
Acide citrique,
Acide malique.

Par conséquent, le rhizome contient les mêmes acides organiques fixes que la feuille.

LE TANIN

Après avoir localisé microchimiquement le tanin, nous avons essayé de le caractériser par des réactions appropriées.

Elles ont été effectuées sur le précipité tannique obtenu lors de la recherche des acides organiques :

1° Le cyanure de potassium nous a donné une coloration rose fugace.
2° Le réactif de Braemer (acéto-tungstate de soude) nous a donné un précipité, mais pas de coloration verte.
3° L'hypochlorite de soude nous a donné une teinte orangée.
4° L'acétate de cuivre nous a donné un précipité gris-vert.

Les réactions au brome et à la formaldéhyde ont été négatives, comme pour la feuille.

Donc, le tanin du rhizome appartient aux groupes de l'acide gallique et ellagique.

Dosage du tanin :

Nous avons employé la méthode d'Eder et nous avons effectué trois dosages, chacun sur 4 grammes de drogue.

Nous avons obtenu le résultat moyen suivant :

0 gr. 452 de CuO correspondant à 0 gr. 5903 de tanin, c'est-à-dire : $0{,}5903 \times 25 = 14$ gr. 757 de tanin pour 100 gr. de drogue.

CHAPITRE VIII

Etude des acides organiques volatils et recherche d'une essence

Nous avons opéré dans les mêmes conditions exactement que pour la feuille, en partant de 100 gr. de rhizome frais, finement divisé.

Le distillat acide incolore présentait une odeur caractéristique assez désagréable, qui nous a semblé différente de celle obtenue avec la feuille.

Le résidu laissé par l'éther après évaporation était constitué par une simple tache brun chamois au fond de la capsule, et présentait la même odeur désagréable que le distillat. Nous en avons conclu à l'existence de traces d'essence dans le rhizome de *B. cordifolia.*

Sur la solution aqueuse résiduelle débarrassée de l'éther, acidifiée et redistillée jusqu'à obtention de 50 cc. de distillat, nous avons effectué la recherche des acides organiques volatils.

Nous avons employé la méthode de Bertrand et Agulhon, exposée plus haut, pages 78, 79, qui nous a permis de caractériser les acides organiques suivants :

Acide acétique,

Acide formique.

Le rhizome contient donc les mêmes acides organiques volatils que la feuille.

CHAPITRE IX

Matières minérales

1° Recherches qualitatives :

La calcination a été effectuée dans une capsule de quartz sans dépasser le rouge-sombre pendant 5 heures.

Dans les cendres obtenues, bien blanches et parsemées de quelques points gris, nous avons caractérisé les éléments suivants :

1° Fer. 2° Manganèse. 3° Magnésium. 4° Calcium. 5° Potassium. 6° Sodium. 7° Chlore. 8° Phosphore. 9° Soufre.

2° Recherche spéciale de l'arsenic :

Elle a été effectuée dans l'appareil de Marsh, modifié selon les indications de MM. Jadin et Astruc.

Nous avons obtenu un anneau très net d'arsenic.

3° Recherches quantitatives :

a) *Dosage des centres totales* :

Nous avons trouvé 1 gr. 736 de cendres pour 15 gr. de drogue, soit 6 gr. 944 % de rhizome sec.

b) *Dosage du manganèse* :

Nous avons effectué le dosage de cet élément suivant la technique exposée pages 82 et 83.

Nous avons décelé ainsi 0 gr. 0005 de manganèse % de rhizome sec.

c) *Dosage du fer* :

Il a été effectué :

1° colorimétriquement, et nous avons trouvé 0 gr. 085% en fer;

2° par précipitation au moyen du cupferron, et nous avons trouvé 0 gr. 084 %.

Notons que la méthode colorimétrique nous a donné un résultat plus fort pour le rhizome comme pour la feuille. Cette différence ne peut avoir à notre avis que deux raisons, ou bien :

1° pertes en cours des différentes manipulations pour le dosage pondéral, ou bien,

2° mauvaise appréciation des différences de couleur pour la méthode colorimétrique.

CHAPITRE X

Essais physiologiques

Il nous a paru intéressant de compléter notre travail par quelques essais physiologiques sur le Bergénin, et de voir en particulier si ce corps ne posséderait pas une action sur l'excitabilité neuro-musculaire.

Pour résoudre cette question, nous avons fait appel à la notion de chronaxie, introduite par Lapicque ([53]) et étudié les variations de chronaxie sous l'influence du Bergénin, sur le système sciatique-gastrocnémien de la grenouille.

Les mesures de chronaxie ont été faites par la méthode des condensateurs.

Le matériel employé était le suivant :

Une batterie d'accumulateurs pouvant débiter 12 volts;

Un réducteur de potentiel donnant le 1/200e de la source;

Une série de capacités de 5 à 0,001 microfarads;

Une boîte de résistance pour shunter la préparation;

Une clé de charge et de décharge, type Morse.

Nos essais ont porté sur le système sciatique-gastrocnémien de *Rana esculenta* femelle, isolé de l'animal. Nous avons opéré à une température de 20°, et par la méthode des bains.

Le système neuro-musculaire était plongé dans une solution de Bergénin à 1 ou 2 %, dans du liquide de Ringer contenant la quantité exacte de soude correspondant aux deux fonctions phénol et assurant ainsi la solubilisation du Bergénin.

Nous suivions de 10 en 10 minutes les variations de la chronaxie.

Nous avons réuni dans un tableau les résultats les plus significatifs :

BERGENIN 1%				
	NERF		MUSCLE	
Séjour minutes	Rhéobase volts	Chronaxie microfarads	Rhéobase volts	Chronaxie microfarads
Ringer 30	0,45	0,06	3,0	0,065
Sol. Bergenin				
10	0,45	0,06	2,5	0,07
20	0,3	0,065	2,4	0,045
30	0,3	0,065	3,0	0,045
40	0,5	0,055	3,2	0,045
50	0,25	0,035	3'5	0,035
60	0,3	0,035	3,3	0,04
70	0,5	0,04	3,5	0,035
80	0,3	0,035	4,2	0,1
90	inexcitable		inexcitable	

BERGENIN 2%				
	NERF		MUSCLE	
Séjour minutes	Rhéobase volts	Chronaxie microfarads	Rhéobase volts	Chronaxie microfarads
Ringer 50	0,25	0,055	2,2	0,055
Sol. Bergenin				
10	0,65	0,055	2,4	0,05
20	0,3	0,055	1,9	0,05
30	0,45	0,045	2,7	0,055
40	0,3	0,055	2,9	0,055
50	0,2	0,07	3,2	0,075
60	0,3	0,06	4,4	0,08
70	0,2	0,06	5,2	—
80	inexcitable		inexcitable	

Ces valeurs nous permettent de constater tout d'abord : La faible toxicité du produit : dans une solution concentrée contenant 2 % de Bergénin, l'inexcitabilité n'apparaît qu'après 80 minutes.

Les résultats varient avec la concentration envisagée

En solution à 2 %, les résultats sont assez peu cohérents. Il y a augmentation de la chronaxie nerveuse et de la chronaxie musculaire et l'inexcitabilité directe et indirecte apparaissent en même temps. Tout se passe comme si l'influence d'une hypertonicité de la solution masquait l'influence du Bergénin. Aussi croyons-nous préférable de ne retenir que les résultats obtenus avec la solution à 1 %.

Dans ce cas, toutes les mesures concordent : la chronaxie du nerf décroît jusqu'à environ la moitié de sa valeur initiale, tandis que la chronaxie du muscle, apres avoir décru, augmente lentement, atteint 3 fois la valeur du nerf et l'excitabilité directe et indirecte disparaissent. L'expérience que nous reproduisons nous paraît représenter le mieux l'allure des phénomènes.

Résumé et conclusions générales

Le *B. cordifolia* (Haw) A. Br., objet de notre travail, est une plante vivace, de la famille des Saxifragacées, croissant dans les régions froides du Nord et du Centre de l'Asie, tout spécialement dans le massif de l'Altaï.

Cette espèce a été introduite en Europe vers le milieu du 18e Siècle; actuellement on la trouve beaucoup dans les jardins de nos régions, car elle est particulièrement décorative.

La feuille a été employée en Asie comme succédané du thé et est encore employée là-bas contre la diarrhée.

Dans certaines régions de l'Europe, et notamment en Alsace, on l'emploie dans la médecine populaire, pour soigner l'eczéma des mains, les petites érosions de la peau, les coupures, etc.

Le rhizome, connu dans son pays d'origine sous le nom de *BADAN ou BADANIAN*, y est employé par suite de sa forte teneur en tanin, pour le tannage des peaux.

Nous avons étudié successivement la feuille et le le rhizome.

LA FEUILLE

La feuille de *B. cordifolia* est large, épaisse et vert foncé dessus, un peu plus pâle dessous. Elle est attachée sur le rhizome par la base engaînante de son pétiole. Elle porte sur ses deux faces de gros poils glanduleux formant des ponctuations visibles à l'œil nu, à pédicelle court, à tête large et volumineuse, formée d'un grand nombre de petites cellules.

Ces poils rappellent beaucoup ceux des *Ribes* et du *Houblon*. Dans les tissus de cette feuille, on trouve réparties un peu partout de grosses mâcles d'oxalate de chaux. Sa composition chimique est la suivante :

1° *Glucides* :

Sucres réducteurs (exprimés en glucose) : 3 gr. 712 %.
Sucres hydrolysables (exprimés en saccharose) : 2 gr. 755 %.
Gommes : 1 gr. 60 %.
Hétéroside (*arbutoside*) : 12 gr. 90 %.

2° *Lipides* :

Saponifiables (acides gras) : 1 gr. 043 %.
dont le point de fusion est : 32° 8.
Insaponifiable : 1 gr. 731 %.
dont phytostérol : 12,461 %.
Phytostérol : 0 gr. 216 % de feuilles.

3° *Protides* :

Présence d'albumines, globulines, glutélines.
Azote total : 1 gr. 383 %.
correspondant à : matières protéiques : 8 gr. 643 % environ.

4° *Essence et acides organiques fixes* :

Essence : En très faible quantité.
Acides fixes : Acide tartrique, acide citrique, acide malique.

5° *Acides organiques volatils* :

Acide formique, acide acétique.

6° *Tanoïdes* :

Tanin : 11 gr. 715 %.

7° *Matières minérales* :

Cendres : 5 gr. 580 %.
Présence de : Fer, Manganèse, Magnésium, Calcium, Potassium, Sodium, Chlore, Phosphore, Soufre.
Manganèse : 0 gr. 0007 %.
Fer : 0 gr. 07 %.

Nous avons dosé dans les feuilles de *B. cordifolia* un hétéroside, *l'arbutoside*, dont la présence avait déjà été signalée dans cette espèce par Monsieur le Professeur Wattiez, de Bruxelles. Nous avons trouvé 12 gr. 90 % d'hé-

téroside, c'est-à-dire une très forte proportion. D'autre part, Meunier, ayant signalé l'existence de ce principe dans les graines et les fleurs de certaines plantes de la famille des légumineuses, nous avons cherché à caractériser l'arbutoside dans les fleurs et les graines de *B. cordifolia*. Nous y avons réussi par la méthode indirecte de microsublimation.

LE RHIZOME

Le rhizome de *B. cordifolia* se présente en un cordon brun, irrégulièrement ramifié, lourd, épais, dont la cassure rosit rapidement à l'air. Il possède une saveur extrêmement amère et contient comme la feuille de nombreuses mâcles très volumineuses d'oxalate de chaux.

La composition chimique du rhizome peut être résumée comme suit :

1° *Glucides* :

Sucres réducteurs (exprimés en glucose) : 4 gr. 242 %.
Sucres hydrolysables (exprimés en saccharose) : 2 gr. 232 %.
Gommes : 1 gr. 150 %.
Amidon : 18 gr. 30 %.
Hétéroside (arbutoside) : 2 gr. 310 %.

2° *Lipides* :

Saponifiable (acides gras) : 0 gr. 210 %.
Insaponifiable : 0 gr. 1525 %.
dont phytostérol : 22,50 %.
Phytostérol : 0 gr. 344 % de rhizome.

3° *Protides* :

Présence d'albumines, globulines, glutélines.
Azote total : 1 gr. 278 %.
correspondant à : matières protéiques : 7 gr. 987 % environ.

4° *Essence et acides organiques fixes* :

Essence : traces.
Acides organiques fixes : Acide tartrique, acide malique, acide citrique.

5° *Acides organiques volatils* :

Acide acétique, acide formique.

6° *Tanoïdes* :

Tanin : 14 gr. 757 %.

7° *Matières minérales* :

Cendres : 6 gr. 944 %.
Présence de : Fer, Manganèse, Calcium, Potassium, Sodium, Chlore, Phosphore, Soufre.
Fer : 0 gr. 085 %.
Manganèse : 0 gr. 0005 %.

8° *Bergénin* :

Dans le rhizome desséché : 4 gr. 784 %.
Dans le rhizome frais : 2 gr. 010 %.

Nous avons dosé l'arbutoside dans le rhizome comme dans la feuille : il y existe également en effet comme l'avait signalé Mlle Braeke, mais en proportion beaucoup moins forte.

D'autre part, le rhizome contient une forte proportion d'amidon alors que la feuille n'en contient pas.

Enfin, le rhizome de *B. cordifolia* (Haw) A. Br. semble contenir comme celui de *B. crassifolia* (L.) Engl. un principe immédiat, le *Bergénin*, dont la formule structurale a été établie il y a quelques années par Tschitschibabin.

Le Bergénin est la : 1-tétraoxy 1, 2, 3, 4-butyl, 4, 6-dioxy, 5-métoxyisocoumarine.

Selon Tschitschibabin, le rhizome de *B. crassifolia* desséché en contient environ 5 % ; nous n'en avons pu extraire que 4,784 % du rhizome de *B. cordifolia* desséché.

Le Bergénin agit faiblement sur le muscle gastro-cnémien et le nerf-sciatique de la grenouille ; il se révèle, en effet, comme très peu toxique.

Quoi qu'il en soit, nous *n'avons rien* trouvé, sinon le tanin, qui puisse justifier l'action cicatrisante de la feuille de *B. cordifolia*. Cependant, celle-ci peut avoir une certaine importance thérapeutique, par suite de sa forte teneur en arbutine.

L'arbutine est considérée, en effet, comme un antiseptique urinaire, par l'hydroquinone qu'elle libère dans l'organisme. Ce phénol aurait une action à la fois antizymotique et antiseptique. En France, en Suisse, en Allemagne, on emploie des infusions de feuilles de *BUSSEROLE*, et même des extraits, riches en *arbutine*, pour combattre certaines affections du rein. Or, la *BUSSEROLE* ne peut contenir au maximum que 7 à 8 % d'*arbutine* ; la feuille de *B. cordifolia* peut en contenir jusqu'à près de 13 %. Cette proportion montre que cette drogue pourrait présenter un réel intérêt en médecine.

Bibliographie

1. Bossu (Dr. A.) : Nouveau dictionn. d'Histoire Naturelle et des Phénomèmes de la Nature. T. III.
2. Pickering (C.) M.D. : Chronological History of Plants, Boston 1879, p. 793.
3. Gert van wijk : Plants names, 1909, T. II, p. 1214.
4. Gmelin : Voyages, III, p. 271.
5. Rosenthal : Synopsis plantarum diaphoricarium.
6. Hartwich (C.) : Die menschlichen Genussmittel, Leipzig 1911, p. 445.
7. Guillaumin (A.) : Les Fleurs de jardin, Encycl. pratique du Naturaliste T. I. p. 38.
8. Thouvenin (M.) : Recherches sur la structure des Saxifragacèes — Thèse de Sc. Natur., — Paris 1890, p. 12, 26, 27, 34, 35, 37, 41, 47, 119, (Annales des Sciences naturelles botaniques, 7° Série, T. XII, 1890).
9. Bonnier et Leclerc-du-Sablon : Cours de Botanique (Phanérogames) p. 955, 956, 957, 958.
10. De Jussieu : (A.L.) Genera plantarum.
11. De Candolle : Prodromus systematis naturalis, Paris 1848.
12. Le Maout et Decaisne : Traité général de Botanique descriptive et analytique, p. 264.
13. Bentham et Hooker°: Genera Plantarum.
14. Baillon : Histoire des Plantes, 1872, T. III., p. 325, 326 et 424. Dictionnaire de Botanique S.-Z. p. 26-27.
15. Guignard : (L.) Le jardin botanique de la Faculté de Pharmacie de Paris, p. 120-121.
16. Engler (A.) und Irmscher (E.) : Das Planzenreich-Regni vegetabilis conspectus.
    A. Engler : Saxifragaceae-Saxifraga, 1916, 1., 67 H. (IV, 117 I) 1919, 69 H. (IV,-117-11).
17. Engler (A.) : Monographie der Gattung Saxifraga, Breslau, 1872 p. 2 à 20.
18. Ledebour (C.F.) : Flora altaïca, Berlin, 1830 T. II, Cl. VI-XIV, p. 117, Florica rossica, Stuttgart 1844-1846, Vol. II, p. 214.
19. Rosenthal : Synopsis plantarum diaphoricarium.
20. Gmelin : Flora sibirica, IV. Fig. 267, p. 165.
21. Guillaumin (A.) : Les fleurs de jardin, Encycl. prat. du naturaliste.
22. Engler (A.) und Prantl (K.) : Die natürlichen Pflanzenfamilien, 1890 III., 2 A., p. 45-46 et Bergenia S. 51.
23. Martinet (M.) : Mémoire sur les organes de secrétion des végétaux, Paris, 1872, p. 47, 75, 76, 77.
24. Bourquelot (E.) : Sur l'emploi des enzymes comme réactifs dans les recherches de laboratoires (Journal de Pharm. et Ch. 1907).

25. Bertrand (G.) : L'acide silico-tungstique comme réactif des alcaloides (J. Ph. et Ch. 1899).

26. Braeke M. (Mlle) : Recherches sur les variations de coloration des plantes au cours de leur dessication. Présence d'un hétéroside dédoublable par l'émulsine dans les feuilles de B. cordifolia (Haw) ARr. (Bull. Soc. Chim. Biol. 1931, 13, N° 10 p. 1229).
Mémoire présenté aux Journées de Chimie biol. de Strasbourg le 9 oct. 1931.

27. Wattiez (N.) et Sternon (F.) :Eléments de chimie végétale, Paris 1935, p. 292, 359, 385, 454 et suivantes.

28. Bourquelot (E.) et Fichtenholz (A. Mlle) : Nouvelles recherches sur le glucoside des feuilles de poirier ; son rôle dans la production des teintes automnales de ces organes. Journ. Pharm. & Chim. (7° Série, 3, 1-13-1911).

29. Tschitschibabin, Kirssnow et Rudenko: Ueber nicht gerbende Substanzen aus Badan (Sax. crassf.) Liebig's Annalen (479-1930, p. 303).

30. Meunier (A.) : Sur la nature et la répartition de quelques glucides dans diverses espèces de viciées indigènes (Bulletin des Scienc. Pharmacolog. T. 48 - N° 5, p. 276).

31. Chemineau (R.) : Recherches microchimiques sur quelques glucosides. Thèse doct. pharm. Paris 1904.

32. Goris (A.) : Localisation et rôle des alcoïdes et des glucosides dans les plantes, p. 307.

33. Bourquelot (E.) : Journ. Pharm. & Chim. 1901, T. 14, p. 481-1910, T. II, p. 241.
Bourquelot (E.) et Herissey : Journ. Pharm. & Chim, 1912, p. 246.

34. Englis and Tsang : The clarification of solutions containing reducing sugars (American Chem. Soc. 44,1922).

35. Zechner : Eine Methode zur Quantitativen Bestimmung des Arbutins, Pharm. Monatshefte, 1929, 10, p. 169 et 194.

36. Bertrand et Thomas : Manipulations de chimie biologique, Paris, 1919.

37. Bial : Biochemisches Zentrallblatt, T. I., p. 64.

38. Rosenthaler : Nachweis organicher Verbindungen, 1923, p. 211.

39. Rosenthaler : Zeitschrift für analytische Chemie, 1905, p. 292.

40. Berg : Bulletin de la Société Chimique de France, 1904 (3), 31, p. 1216.

41. Tollens et Rosive: Berichte der Deutschen Chem. Gesellschaft, 1908, t. 41, p. 1784.

42. Neumann : Biochemiche Zeitschriften, 1906, I, p. 383.

43. Deniges : Chimie analytique, Paris, 1931.

44. Tollens : Annalen der Chemie, T. 227, p. 223.

45. Votocek-Vondracek : Berichte der Deutschen Chem. Gesellschaft 1904, T. 37, p. 3854.

46. Bellier : Annales des falsifications, 1910, III, p. 528-529.

47. Inaba : Biochemische Zeitschriften, 1908, T. 7, p. 748.

48. Terroine (et ses élèves) : Annales des falsifications, 1927, p. 79.

49. Lobstein : Recherches biochimiques sur le bacille tuberculeux (Thèse doct. ès-sciences, Strasbourg 1922).

50. Kovelmann : Recherches toxicologiques sur le Cnestis polyphylla (Th. doct. pharm. Strasbourg 1929).

Coisnard : Recherches chimiques sur les fruits de l'Uvaria catocarpa (Th. doct. pharm. Strasbourg 1929).

Moussli : Etude chimique du Drosera rotundifolia (Th. doct. ph. Strasbourg 1930).

Hesse : Etude botanique, chimique et pharmacodynamique du Toddalia aculeata. (Th. doct. ph. Strasbourg 1930).

Weill : La racine de palmier-nain, falsification de la salsepareille. (Th. doct. ph. Strasbourg 1931).

Tischmacher : Etude botanique, chimique et pharmacodynamique des fruits d'Embelia laeta (Th. doct. Ph. Strasbourg, 1934).

51. Cordier (P.) : Relations entre le cholestérol et diverses substances d'origine biologique, douées d'une grande activité physiologique. "H2S, organe officiel des Etudiants en Pharmacie de Strasbourg, Février 1938, p. 5-6-7, Mai 1938, p. 15-16-17.

52. Grigaut : Dos. colorum. de la cholestérine. Journ. Ph. Chim. 1914, 7e série, p. 146.

53. Mestrezat (W.) et Paul-Janet (Marthe) : L'azote titrable par la méthode de Kjeldahl. Bull. Soc. Chim. Biol. 1921, T. III, p. 108.

54. Lematte, Boinot et Rahane : Journ. Pharm. Chim. 1927, 8e série, p. 325.

55. Sorensen et Andersen : Zeitschrift für Physiol. Chemie, 1905, 44, p. 429.

56. Deniges : Précis de Chimie analytique, 1920, p. 749.

57. Villiers et Moreau-Talon : Bull. Soc. Chimie 1918, p. 308.

58. Hesse (P.) : Etude botanique, chimique et pharmacodynamique du Toddalia acculeata (Th. doct. ph. Strasbourg 1930, p. 89)

59. Tischmacher (J.) : Etude botanique, chimique et pharmacodynamique des fruits d'Embelia laeta (Th. doct. pharm. Strasbourg 1934, p. 85).

60. Boivin (A.) : Le microdosage du carbone. Bull. Soc. Chim. Biol. 1909, T. XI, p. 1363.

61. Pregl : La microanalyse quantitative. Trad Welter, Paris 1923, p. 103.

62. Joergensen : Zeitschrift für Nahrungs-und Genussmitttell 1907, T. XIII, p. 247.

63. Schmidt : Ausführliches Lehrbuch d. Pharm. Praxis, T. II, p. 542.

64. Braemer : Les tanoïdes (Th. Dipl. sup. pharm. Lyon 1890).

65. Kunz-Krause : Pharmazeutisches Zentralblatt, Vol. 39.

66. Fisher et Freudenberg : Ueber das Tannin und die Synthese ähnlicher Stoffe. Berihte Deutch. Chem. Gesells. 1912.

67. Perrot et Goris : Bulletin des Sciences pharmacologiques, Avril 1909, p. 189.

68. Garreau et Machelaert : Nouvelles recherches sur les Saxifrages. Journ. Pharm. et Chim. 1880, p. 129 et 640.

69. Abderhalden : Handbuch der Biochemischen Arbeitsmethoden, Vol. VII, p. 378.

70. Bertrand et Thomas : Guide pour les manipulations de chim. biol. 1919, p. 142.
71. Deniges : Bulletin de la Soc. Pharm. de Bordeaux, 1911, p. 152.
72. Bertrand : Bulletin de la Soc. Chim. 1911, p. 361.
73. Jadin et Astruc : C. R. Ac. Sc. 1912, T. 155, p. 406.
74. Garnier : Le rôle biologique du manganèse (Th. doct. pharm. Nancy, 1928).
75. Jadin et Astruc : C. R. Ac. Sc. 1912, T. 154, p. 893.
76. Jadin et Astruc : Journ. Pharm. Ch. 1912, T. 6, p. 529.
77. Ogier et Kohn-Abrest : Traité de Chimie toxicologique, 1924, T. I., p. 541-573.
78. Jadin et Astruc : Appareil producteur d'hydrogène pour la recherche de l'arsenic dans la méthode de Marsh. Journ. Pharm. Chim. 1912, T. 5, p. 233.
79. Morelle (E.) : Sur un nouvel hydrate de carbone. C. R. Ac. Sc. 1881 (2), 93-646-649.
80. Powarnin : Anzeiger der Hauptverwaltung der Lederindustrie (Russ) 1921. D'après MM. Tschitschibabin, Kirssanow, Korolew und Woroschzow Jun. Justus Liebig's Annalen der Chemie, 1929, 469, H2, S. 93, 127.
81. Ssadikow und Guthner : In Kenntnis des Bergenins - Biochem. Zeitschr. 1927, 190, H4/6. S. 340-351.
82. Tschitschibabin, Kirssanow, Korolew, Woroschzow Jun. : Ueber nicht gerbende Substanzen des Extraktes aus dem Wurzelstock des Badans, B. crassifolia, Justus Liebig's Annalen der Chemie, 1929. 469, H2, S. 93, 127.
83. Lapicque (L.) : L'excitabilité en fonction du temps (Presses universitaires de France, Paris 1926).

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS. 9

INTRODUCTION. 11

PREMIERE PARTIE

Etude botanique générale. 13

a) Les Saxifragacées. 13

b) Le genre *Bergenia*. 19

c) Le *Bergenia cordifolia* (Haw) A. Br. 23

DEUXIEME PARTIE

La FEUILLE de *Bergenia cordifolia* (Haw) A. Br.

Etude botanique. 25

Morphologie externe et structure histologique. . 25

Recherches microchimiques. 26

Etude chimique. 28

CHAPITRE I: Essais préliminaires. 28

CHAPITRE II: Recherche des *Alcaloïdes*. 32

CHAPITRE III: Etude des *Glucides*. 36

L'Hétéroside. 36

Les Sucres. 50

La Gomme. 56

CHAPITRE IV: Etude des Lipides. 57

CHAPITRE V: Etude des Protides. 63

CHAPITRE VI: Etude des Acides organiques fixes et du Tanin. 70

CHAPITRE VII: Etude des Acides organiques volatils et recherche d'une essence. . . . 78

CHAPITRE VIII: Etude des Matières minérales. 81

TROISIEME PARTIE

Le RHIZOME de *Bergenia cordifolia* (Haw) A. Br.

Etude botanique. 87
Morphologie externe et structure anatomique. . 87
Examen microchimique des coupes. 88
Etude chimique. 89
CHAPITRE I: Essais préliminaires. 89
CHAPITRE II: Recherche des Alcaloïdes. 91
CHAPITRE III: Etude des Glucides. 92
L'Hétéroside. 92
Les Sucres. 94
La Gomme. 94
L'Amidon. 95
CHAPITRE IV: Le Bergénin. 97
CHAPITRE V: Etude des Lipides. 107
CHAPITRE VI: Etude des Protides. 109
CHAPITRE VII: Etude des Acides organiques fixes et du Tanin. 111
CHAPITRE VIII: Etude des Acides organiques volatils et recherche d'une essence. . . . 113
CHAPITRE IX: Matières minérales. 114
CHAPITRE X: Essais physiologiques. 116

RESUME ET CONCLUSIONS GENERALES. 119
BIBLIOGRAPHIE. 124

Vu :
Strasbourg, le 2 Juin 1938.
Le Président du Jury :
R. SARTORY.

Vu et Approuvé :
Strasbourg, le 2 Juin 1938.
Le Doyen de la Faculté de Pharmacie :
A. SARTORY.

Vu et Permis d'Imprimer :
Strasbourg, le 3 Juin 1938.
Le Recteur de l'Académie,
Président du Conseil de l'Université :
J. DRESCH.